الميكروبيولوجيا الصناعية

الجزء النظري

السـنة: الرابعة

القسـم: علم الحياة النباتيّة

الاختصاص: الأحياء الدقيقة

منشورات جامعة دمشق
كليـــة العلـــوم

الميكروبيولوجيا الصناعية

الجزء النظري

الدكتور عدنان أحمد علي نظام

أستاذ في قسم علم الحياة النباتية

جامعة دمشق

١٤٣٥ ـ ١٤٣٦ هـ
2014 - 2015 م


وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

المحتوى

الصفحة	
13	المقدّمة
17	**100 مدخل إلى الميكروبيولوجيا الصناعية** **Introduction to Industrial Microbiology**
19	110 دور الأحياء الدقيقة في المحيط الحيوي The Role of Microorganisms in Biosphere
27	120 الميكروبيولوجيا التطبيقية Applied Microbiology
30	130 التقانات الحيوية Biotechnology
36	140 تطور التخمر الصناعي Development of Industrial Fermentation
38	141 العصور القديمة (← 1860) Ancient Periods
38	142 اكتشافات باستور (1860 – 1863) Pasteur´s Discoveries
40	143 الاكتشافات بعد باستور (1863 – 1900) Post · Pasteur´s Discoveries
40	144 المرحلة بين عامي 1900 – 1940 Period between (1900 · 1940)
41	145 المرحلة بين عامي 1940 – 1960 Period between (1940 · 1960)
41	146 المرحلة بين عامي 1960 – 2000 Period between (1960 · 2000)

147 مرحلة القرن الحادي والعشرين 42
At the Beginning of 21th. Century
150 مجالات الميكروبيولوجيا الصناعية 43
Scopes of Industrial Microbiology
160 الأحياء الدقيقة والمستقبل 48
Microorganisms and Future
200 الأحياء الدقيقة الصناعية 53
Industrial Microorganisms
210 الفطريات Fungi 55
220 الجراثيم Bacteria 68
230 الطحالب Algae 75
240 احتياجات نمو الأحياء الدقيقة 77
Requirements of Microbial Growth
250 منحنى النمو Growth Curve 81
251 زمن الجيل Generation Time 81
252 أطوار النمو Growth Phases 82
253 تركيز الخلايا Cell Concentration 83
260 القياس الكمّي للنموّ 83
Quantitative Measurement of Growth
261 عدد الخلايا Cell Count 83
262 الكتلة الحيوية Biomass 83
263 الفاعلية الحيوية Bioactivity 84

84 270 منتجات العمليات الصناعية Industrial Processes Products
85 271 إنتاج الكتلة الحيوية Biomass Production
86 272 المستقلّبات الأوليّة Primary Metabolites
86 273 المستقلّبات الثانويّة Secondary Metabolites
87 274 مراحل تركيب المستقلبات
Stages of Metabolites Synthesis
88 275 منتجات التحوير الوراثي Transgenic Products

300 اصطفاء السلالات المنتجة للمواد المهمة صناعياً

93 Selection of Strains Producers of Industrially Important Substances

95 310 غرض الاصطفاء Selection Aim
97 320 الطفرات Mutations
104 330 المطفرات الكيميافيزيائية Chemophysical Mutagens
105 340 اختيار السلالات الأولية للاصطفاء
Choose of Initial Strains for Selection
106 341 تحسين السلالة Strain Improving
106 342 العزل Isolation
110 343 الأوساط الاصطفائية Selective Media
110 344 تنقية المزرعة وحفظها
Purification and Conservation of Culture
111 345 مجموعات المزارع Culture collections
113 346 ثباتية السلالة Strain Stability
113 347 اختيار المواد الخام Choose of Raw Materials

350 مصادر عاثيات الجراثيم في الصناعات الميكروبيولوجية 115
Sources of Bacteriophages in Microbiological Industries
351 العاثيات الخارجية Exogenic phages 116
352 العاثيات الداخلية Endogenic phages 116
360 الطرائق البسيطة لتحديد عاثيات الجراثيم 117
Simple Methods to Identify Bacteriophages
361 اختبار دورة النمو وحيدة الخطوة 117
One-stepped Cycle of Growth Test
362 المستعمرات السلبية Negative Colonies 118
363 طيف فاعليّة التحلّل Spectrum of Lytic Activity 119
370 الصفات الكيميافيزيائية لدقائق عاثيات الجراثيم 120
Chemophysical Properties of Bacteriophages Virions
380 مكافحة التحلل بالعاثيات في الظروف الصناعية 121
Phagolysis Control in Industrial Conditions

400 المخمرات والمفاعلات الحيوية 125
Fermenters and Bioreactors

410 خصائص المخمرات Characteristics of Fermenters 127
411 أقسام المخمر Parts of Fermenter 127
412 صفات المخمرات Properties of Fermenters 128
420 مكونات وحدة التخمر Components of Fermentation Unit 129
430 أنماط المخمرات Types of Fermenters 131
440 تصميم المخمرات Design of Fermenters 133
450 التهوية والاهتزاز Aeration and Agitation 136

137 460 استبقاف الخلايا Cell Immobilization CI
142 461 الامتزاز Adsorption
143 462 الاقتناص Entrapment
144 463 التغليف Encapsulation
144 464 الارتباط التصالبي Cross-linking bond
145 465 الارتباط التساهمي Covalent binding bond

151 **500 التقنيات الميكروبيولوجية للإنتاج الصناعي**
Microbiological Techniques for Industrial Production

153 510 أوساط الاستزراع Cultivation Media
153 511 اختيار أوساط الاستزراع Choose of Cultivation Media
157 512 مصادر الكربون Sources of Carbon
160 513 مصادر النتروجين Sources of Nitrogen
161 514 المواد الإضافية Additive materials
164 515 مضادات الرغوة Antifoam Agents

166 520 تقنيات تنمية الأحياء الدقيقة الصناعية
Techniques for Culturing Industrial Microorganisms
166 521 اللَّقح Inoculum
169 522 المزرعة الأولية Preculture
169 530 المزرعة ذات الدفعة الواحدة Batch Culture
171 540 مزرعة الدفعة الواحدة المغذاة Fed Batch Culture
172 550 المزرعة المستمرة Continuous Culture

174 560 أنماط التخمرات Types of Fermentations
175 570 خزن المزارع Storage of Cultures
175 571 ظروف النمو Growth Conditions
176 572 صعوبات تجديد المزارع
Difficulties of Renovate of Cultures
176 573 طرائق خزن المزارع Methods of Cultures Storage
178 574 التحكم في الأحياء الدقيقة المحفوظة
Control of Conserved Microorganisms
179 575 تسجيل بيانات المزارع Registration of Culture Data
182 580 الكشف عن المنتّجات Detection of Products
183 581 ضمان الجودة Quality Assurance
185 582 معالجة المخلفات Waste Treatment

600 إنتاج المكونات الخلوية والمواد الفعّالة حيوياً
189 **Production of Cell Components and Bioactive Substances**

191 610 عديدات السكر Polysaccharides
192 611 الدكستران Dextran
193 612 الزانتان Xanthan
193 613 الألجينات Alginate
193 614 الكوردلان Curdalan
193 615 السكليروغلوكان Scleroglucan
193 616 البولولان Pullulan

194 620 الإنزيمات Enzymes
194 621 خواص الإنزيمات Properties of Enzymes
197 622 الأميلاز Amylases
201 623 البروتياز Proteases
202 624 الأنفحة Renin
203 625 البكتيناز Pectinases
204 626 الليباز Lipases
204 627 ثباتية الإنزيمات Stabilization of Enzymes
205 628 مصادر الإنزيمات Sources of Enzymes
205 630 الشحوم Lipids
207 640 الجبرلينات Gibberellins
208 650 الفيتامينات Vitamins
209 651 البيوتين Biotin
210 652 الريبوفلافين Riboflavin (الفيتامين B2)
211 653 السيانوكوبلامين (الفيتامين B12)
215 654 الكاروتينويدات Carotenoids
223 660 الحموض الأمينية Amino acids
226 670 معزّزات النكهة والطعم والرائحة
Flavor, Taste and Odor Enhancers
228 680 التخمر البروبيوني Propionic Fermentation
228 690 بروتين الخلية المفردة Single Cell Protein (SCP)

241 **700 الطاقات المتجددة والبديلة**
Renewable and Alternative Energies

243 710 مفهوم الوقود الحيوي Concept of Biofuel

256 720 الإيثانول الحيوي Bioethanol

264 730 الديزل الحيوي Biodiesel

267 740 الغاز الحيوي Biogas

276 750 الأسيتون- البوتانول Acetone -- Butanol

280 760 محاصيل الطاقة Energy crops

282 770 الهدروجين الحيوي Biohydrogen

297 **800 التطبيقات الميكروبيولوجية البيئية**
Environmental Microbiological Applications

299 810 الامتزاز الحيوي Biosorption

310 820 المعالجة الحيوية للمخلفات Bioremediation

314 830 السليلوز Cellulose

316 840 اللغنين Lignin

317 850 الغسل الحيوي Bioleaching

320 860 الأنسجة Tissues

321 870 المِجَسّات الحيوية Biosensors

335 **المصطلحات Terminology**

360 **قائمة الأحياء الدقيقة**

المقدمة

من المؤكد أن الإنسان القديم اهتدى إلى استعمال الأحياء الدقيقة الصناعية قبل أن يتمكّن من اكتشافها ومعرفة ماهيتها، فبعض ما كان معروفاً من تأثيراتها منذ نحو عشرة آلاف سنة مضت، وبعض ما أُنتج كان مهماً في تاريخ البشرية، وهنالك منتّجات تركت تأثيرها في حياة الإنسان، غير أن نشوء علم الأحياء الدقيقة والتقدم التقني الذي دفع بقوة إلى تطوير الدراسة والتطبيق في مختلف المجالات، وكذلك قدرة بعض أنواع الأحياء الدقيقة على إنتاج منتّج واحد أو أكثر من المنتّجات المفيدة، والنجاحات في عزلها وتنميتها وتحويرها؛ إضافة إلى تخصصها في امتلاك مسالك استقلابية وفيزيولوجية قادرة على إنتاج كمية كبيرة من المُستقلَبات النوعية، وتنوّع طرائق استعمال المواد حتى النوعي جداً، وقابليتها للتحوير الوراثي عن طريق الطفرة أو التأشيب... كل ذلك جعل الأحياء الدقيقة الصناعية التقليدية والمحوّرة مذهلة في إظهار العديد من الخصائص الحيوية الكيميائية والخلوية الجديدة، وكذلك نمو السلالات الصناعية في الظروف النوعية ضمن المخمّرات الصناعية والمفاعلات الحيوية أو الأحواض المفتوحة، وسهولة متابعتها وتأمين المواد اللازمة لكثير منها باستعمال المواد منخفضة النوعية، والمخلفات والبقايا الزراعية والصناعية حيث توجد مواد عضوية؛ وإن كان بعضها ساماً، وإمكان استعمالها للمخلفات المنزلية الصلبة والسائلة.

وفي العقد الثاني من القرن الحادي والعشرين تتسع مجالات الاهتمام والمواد الممكن إنتاجها في خدمة الإنسان والبيئة، وما لم نتمكن من الاهتداء إليه أو تحويره أو تحويله عظيم بكل تأكيد!..

تفتح التقانات الحيوية وتطبيقاتها إمكانات الحصول على منتّجات مفيدة وأخرى جديدة، وتحوير الأحياء الدقيقة، وكثيراً ما تمكّنت من إدخال المنتجات إلى السوق، وإن كانت خطوة صعبة جداً.

يهدف هذا الكتاب إلى تأمين مادة علمية شاملة عن أسس الميكروبيولوجيا الصناعية وتطبيقاتها، وتوضيح العلاقة الوثيقة بين هذا العلم التطبيقي والتقانات الحيوية في المجالات التنموية الصناعية والحياتية والبيئية، وإن اضطررنا إلى عدم التعرض لموضوعات مهمة كالصادات الحيوية والميكروبيولوجيا الغذائية، والميكروبيولوجيا الطبية، بحكم التقيد بموضوعات مقرّر الميكروبيولوجيا الصناعية لطلاب السنة الرابعة – علم الحياة، فرع الأحياء الدقيقة، وفق اللوائح الجديدة لكلية العلوم بجامعة دمشق، حيث يوضع هذا الكتاب أول مرة خدمة للعلم، وإضافة إلى المكتبة العلمية العربية.

يتضمن هذا المؤلّف الأساسيات والمستجدات في موضوعات الميكروبيولوجيا الصناعية، ويزود بالأهداف التعليمية، ومجموعة من الأسئلة المتباينة لكل فصل، وشرح 56 مصطلحاً مفتاحياً في مقدمات الفصول، وبذلنا الجهد لجعل المادة العلمية يسرة، سهلة وواضحة، وإرفاقها بالأشكال والجداول والصور اللازمة، ضمن مقدمة وثمانية فصول أساسيّة.

يتضمن الفصل الأول مدخلاً إلى الميكروبيولوجيا الصناعية، وتطور هذا العلم، ومصادر العينات الطبيعية للأحياء الدقيقة وتنوعها، وتطور التخمر الصناعي، وتأثير التقانات الحيوية، ومجالات الميكروبيولوجيا الصناعية، ويحتوي الفصل الثاني الصفات العامة للأحياء الدقيقة الصناعية: كالأعفان، والخمائر، والجراثيم، والطحالب، واحتياجات نموّها، والعناصر الغذائية والظروف الفيزيائية، ومنحنى النمو وزمن الجيل وأطوار النمو، وتركيز الخلايا والقياس الكمّي للنموّ.

وفي الفصل الثالث يجري الحديث عن اصطفاء السلالات المنتِجة للمواد الصناعية، وغرض الاصطفاء، والطفرات والمطفرات، واختيار الأحياء الدقيقة الأولية للاصطفاء، وتحسين السلالة، والعزل وتنقية المزرعة وحفظها، وعاثيات الجراثيم في الصناعة الميكروبيولوجية.

ثم في الفصل الرابع يجري الحديث عن خصائص المخمرات والمفاعلات الحيوية: الخصائص والأنماط والتصميم، وظروف الإنتاج، ومكونات وحدة التخمر، واستيقاف الخلايا، بينما يتضمّن الفصل الخامس التقنيات الميكروبيولوجية للإنتاج الصناعي، وأوساط الاستزراع، وتقنيات تنمية الأحياء الدقيقة، والمزارع وخزنها، وتسجيل بيانات المزارع، وأنماط التخمرات الميكروبيولوجية، والكشف عن المنتَجات.

ويتضمن الفصل السادس موضوعات إنتاج المكونات الخلوية والمواد الفعّالة حيوياً:

- عديدات السكر (الدكستران والزانتان والألجينات والكوردلان والسكليروغلوكان والبولولان).
- الإنزيمات (الأميلاز والبروتياز والأنفحة والبكتيناز واللِّياز، إلى جانب الخواص الأساسية للإنزيمات).
- الشحوم، والجبرلينات، والحموض الأمينية.
- الفيتامينات (البيوتين والريبوفلافين – الفيتامين B_2، والسيانوكوبلامين – الفيتامين B_{12}، والكاروتينويدات).
- معزّزات النهكة والطعم والرائحة (نُكليوتيدات النكهة والتربنات والمنتول واللاكتونات).
- التخمر البروبيوني.
- إنتاج بروتين الخلية المفردة.

أما الفصل السابع فيتضمن الطاقة المتجددة والبديلة، إنتاج الطاقات السائلة والغازية، كالإيتانول الحيوي، والديزل الحيوي، والغاز الحيوي، والأسيتون – البوتانول، والهدروجين الحيوي، ويتضمّن الفصل الثامن الأخير التطبيقات الميكروبيولوجية البيئية: الامتزاز الحيوي، والمعالجة الحيوية للمخلفات، وتفكك السليلوز واللغنين والأنسجة، والغسل الحيوي، ثم المجسّات الحيوية.

ويزود الكتاب بقائمة موسعة من المصطلحات العلمية، وكذلك بقائمة الأحياء الدقيقة الواردة في النص.

أخيراً، تفتح موضوعات الكتاب النوافذ على العلوم الأخرى، وعلى الإبداع والاكتشاف، فالأحياء الدقيقة الصناعية مجالات رائعة من المعرفة التي لا تنضب، والإبداع الذي لا حدّ له ... فهي فعلاً معامل الغد للثراء والغذاء والدواء وصون البيئة والصحة وحماية الحياة، والعمل بها جزء لا يتجزأ من المستقبل المشرق للإنسانية التي يجب صونها وصوغها واستحداثها...

إننا نتقدم في المعرفة والاكتشاف، ونمتلك أدوات جديدة يتحتّم استعمالها من أجل التنمية المستدامة والإنسان!....

دمشق في 24/ 04/ 2014

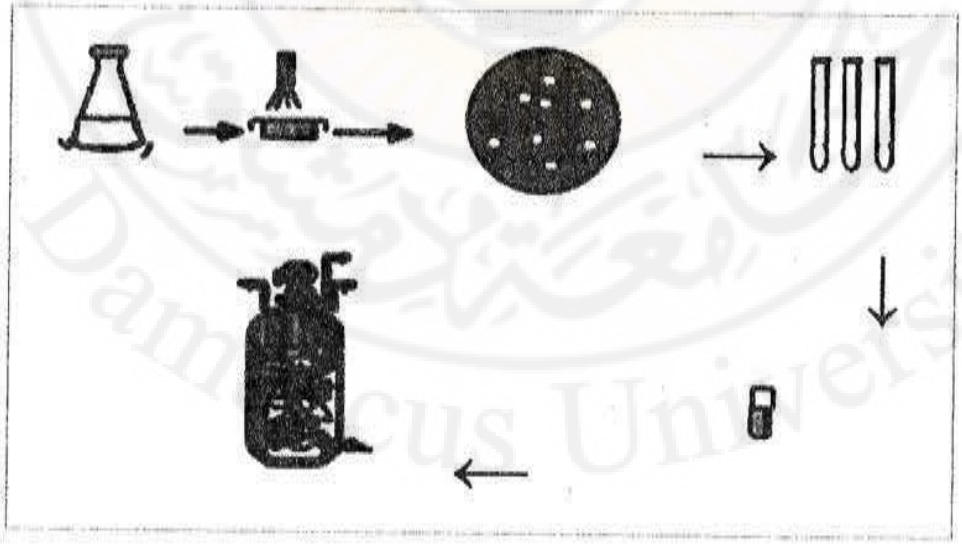
المؤلف

مدخل إلى الميكروبيولوجيا الصناعية

Introduction to Industrial Microbiology

يتوقع من المتعلم في نهاية الفصل أن يكون قادراً على أن:

- يحدّد مصادر الأحياء الدقيقة.
- يستنتج أهمية تنوع الأحياء الدقيقة في الصناعات الحديثة.
- يقارن بين التطبيقات الصناعية للأحياء الدقيقة.
- يربط بين التقدم التقاني واستعمال الأحياء الدقيقة.
- يسلسل مراحل تطور التخمر.
- يذكر عدداً من المنتجات الطبيعية للأحياء الدقيقة المهمة صناعياً.
- يقدّر أهمية الأحياء الدقيقة في الاقتصاد والتنمية.



مفاهيم مفتاحية

- **التنوع Diversity**

تتصف مجموعات الأحياء الدقيقة بصفات متباينة تجعلها رائعة في تطورّها، وفيزيولوجيتها، واستقلابها، وقابليتها للتغير الوراثي.

- **التوزّع Distribution**

تنتشر أنواع الأحياء الدقيقة ضمن منطقة انتشار النوع في المنطقة الجغرافية، تحت تأثير ظروف الوسط الحيوية واللاحيوية المتباينة.

- **المحيط الحيوي Biosphere**

يمثل الأحياء (أفراد، وجماعات، ومجتمعات) التي تكوّن مظاهر الحياة في البيئة، ويقتضي بقاؤها واستمرارها الاعتماد على المكونات الحية واللاحية.

- **المعدنة Mineralization**

تسهم الأحياء الدقيقة في تفكيك المركّبات العضوية المعقدة التي تركّبها الأحياء المنتِجة غالباً بتأثير طاقة الشمس إلى عناصر كيميائية بسيطة.

- **البدائل الخضراء Green alternatives**

تفيد التقانات المتقدمة والبحوث العلمية المتطورة في الحصول على مواد قابلة للتحلل في البيئة، واتخاذ تدابير لا تضر بالبيئة، وتجعلها مستدامة.

- **التقانات الحيوية الصناعية Industrial Biotechnology**

تعتمد على استعمال الأحياء الدقيقة، أو غيرها من الأحياء، أو تحويرها وراثياً، أو استعمال منتجاتها في العمليات الصناعية أو التطبيقات.

- **التخمر Fermentation**

هو التغير الكيميائي الذي يطرأ على المركبات العضوية بفعل إنزيمات ينتجها بعض الأحياء الدقيقة وإنتاج مركبات عضوية أخرى أقل تعقيداً.

110 دور الأحياء الدقيقة في المحيط الحيوي
Role of Microorganisms in Biosphere

111 تنوع الأحياء الدقيقة Diversity of Microorganisms

توجد على الأرض مجموعات من الأحياء الدقيقة هائلة من حيث أعداد الأنواع أو من حيث كتلتها الحيوية، وهي:

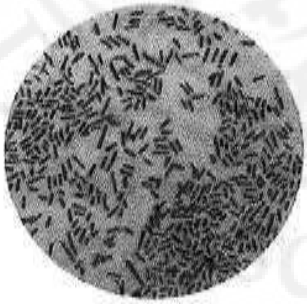
(1) الجراثيم Bacteria: بما في ذلك مجموعات الجراثيم الزرقاء Cyanobacteria والشُّعّيات Actinobacteria، لها أشكال عديدة، ويسبب بعضها الأمراض للنباتات أو للحيوانات أو للإنسان، غير أنها تعيش على بقايا المواد العضوية في البيئة غالباً، ولبعضها الآخر أهمية طبية أو زراعية أو غذائية وغير ذلك (الشكل 1-1).

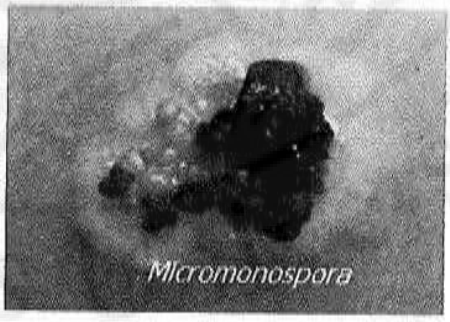


Anabaena



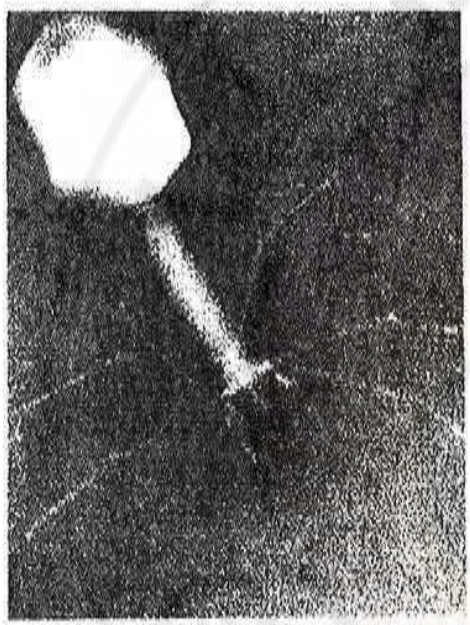
Lyngbya



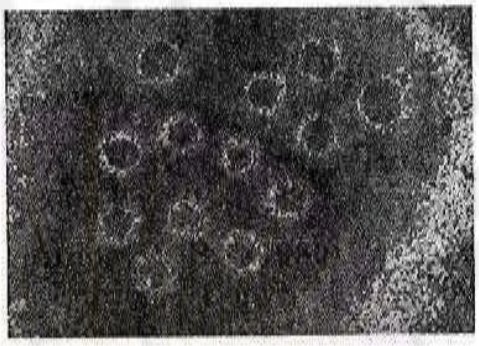


الشكل 1-1 الجراثيم.

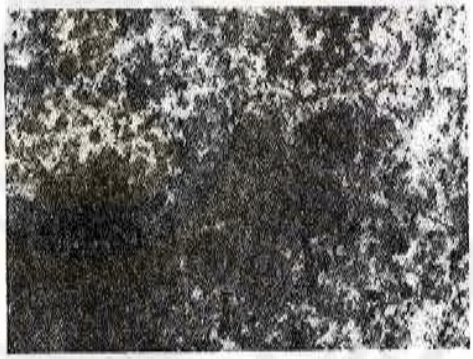
(2) الفيروسات Viruses: وهي عوامل مجبرة التطفل على الخلايا الحية، بما في ذلك عاثيات (ملتهمات) الجراثيم Bacteriophages، وتمثّل جسيمات فائقة الدقة عديدة الشكل، وتتكوّن من غلاف بروتيني يتوضع أحد نمطي الحمض النووي دنا DNA أو رنا RNA في داخله، لا يمكن تعريفها إلا بوساطة المجهر الإلكتروني (الشكل 1-2).



T4 Bacteriophages

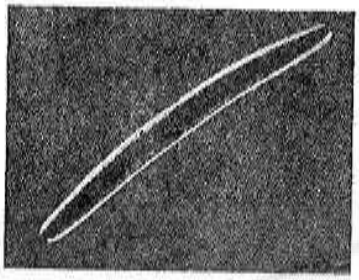


Hepatitis V.



الشكل 1-2 الفيروسات.

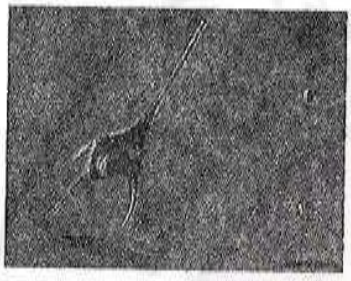
(3) الطحالب Algae: أحياء منتجة ذات أهميّة كبيرة في بيئاتها، وتوجد بأشكال متباينة: بعضها مفرد الخلية Single Cell وبعضها الآخر في مستعمرات Colonies، ويسبب بعضها مشكلات صحية وبيئية، وتتميّز بتكيّفات فيزيولوجية وشكلية للحياة في الأوساط المائية، وتكون قاعية Benthic أو معلّقة في الطبقة المائية. وتدعى العوالق النباتية Phytoplankton، وبعضها بريّ (الشكل 1-3).



Closterium



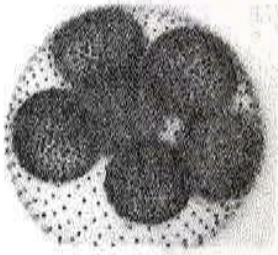
Euglena



Ceratium



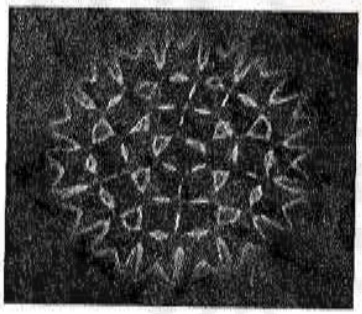
Scenedesmus



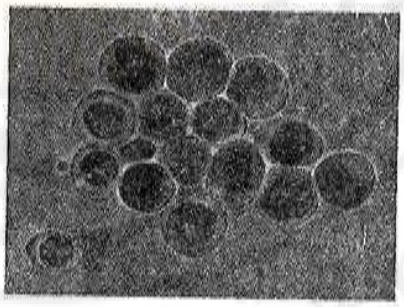
Volvox



Cymbella



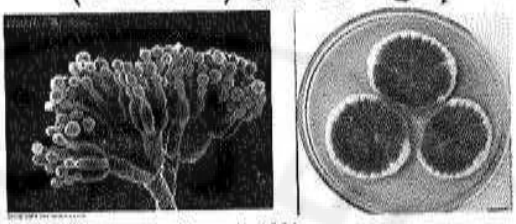
Pediasrum



Chlorococcum

الشكل 1-3 الطحالب الدقيقة.

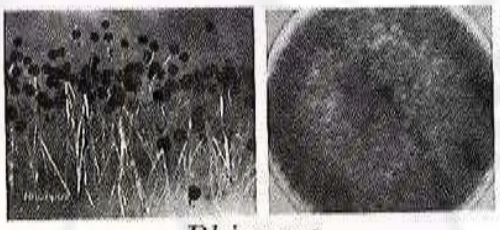
(4) الفطريات Fungi: بما فيها الخمائر، ذات الأهمية في الزراعة والغذاء والطب، وإن كان بعضها ممرضاً للنباتات أو للحيوانات أو للإنسان، ولها أهمية في البيئة وإنتاج الغول وغيره (الشكل 1-4).



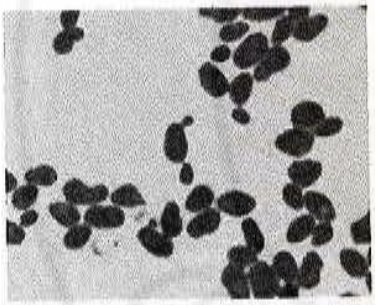
Penicillium



Armillaria



Rhizopus

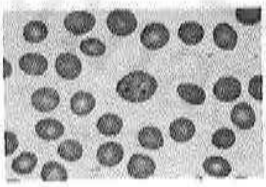




Candida

الشكل 1-4 الفطريات.

(5) الأوالي الحيوانية Protozoans: تسبب الأمراض للأحياء المختلفة كالنباتات والحيوانات والإنسان، ولبعضها أهمية بيئية، وهي ضارّة بالصحة العامة غالباً (الشكل 1-5).





الشكل 1-5 الأوالي الحيوانية.

ومن أنماط التنوّع:

* التنوّع التطوّري السلالي Phylogenetic Diversity الذي يعكس موقع الأنواع في شجرة التطور اعتماداً على التركيب المورثي ومستوى التطور.

* التنوّع الفيزيولوجي Physiologic Diversity والتنوّع الاستقلابي Metabolic Diversity حيث يرتبطان بقدرة الأحياء الدقيقة على استعمال المركبات الكيميائية المغذية، واستعمال السموم الكيميائية والمثبطات أحياناً كمصدر للتغذية، وبذلك تكتسب الأحياء الدقيقة أهمية في التصنيف والبيئة.

112 توزّع الأحياء الدقيقة Distribution of Microorganisms

تنتشر الأحياء الدقيقة في مختلف النظم البيئية Ecosystems تحت تأثير ظروف الوسط المتباينة، فهي توجد في التربة والمياه والهواء، كما توجد في الأحياء وعلى سطوحها وتجاويفها.

(1) التربة Soil

تنتشر الأحياء الدقيقة بأعداد هائلة في التربة بسبب توافر المواد العضوية؛ إضافة إلى العناصر اللازمة للنمو والرطوبة التي تحمي هذه الأحياء من تأثير الظروف البيئية القاسية، وتختلف أعداد الأحياء الدقيقة في التربة وفقاً لنوعيتها ولتوافر المواد الغذائية، ووفقاً لنوعية الأملاح المعدنية المختلفة وتركيزها، ويعود الانتشار الواسع للأحياء الدقيقة في التربة؛ لأنها تتّصف بشروط ثابتة تقريباً (الشكل 1-6).



(الشكل 1-6)

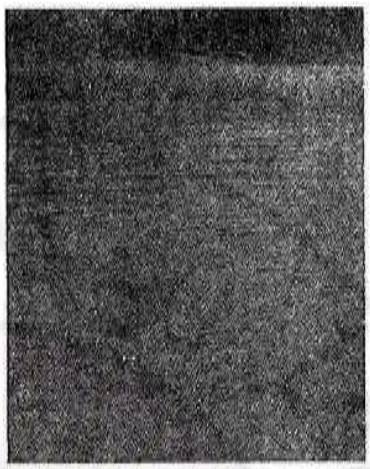




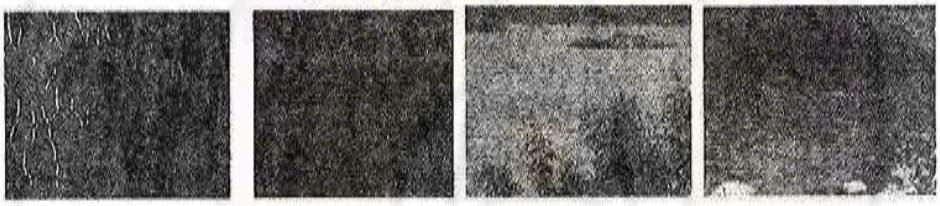


(2) الماء Water

تنتشر الأحياء الدقيقة في مختلف أنماط تجمّع المياه، مثل: البحار، والأنهار، والينابيع، والبحيرات وغيرها، والمياه الجوفية، وهي تتوزع بأشكال مختلفة في البيئات المائية المتباينة، وتختلف أنواع الأحياء الدقيقة وأعدادها باختلاف البيئات المائية؛ من حيث: كمية المواد الغذائية، والحرارة، والرقم الهدرجيني، والغازات المذابة: كالأكسجين وغيره، وتركيز الأملاح المعدنية المعلقة والمذابة ونوعيّتها، ومقدار الأشعة الضوئية (الشكل 1-7).



(الشكل 1-7)



(3) الهواء Air

توجد أنماط محدودة من الأحياء الدقيقة في الهواء، وإن كان قليل المواد الغذائية والرطوبة؛ إضافة إلى التأثير القاتل للأشعة فوق البنفسجية (الشكل 1-8).



(الشكل 1-8)

(4) الأحياء Livings

تنتشر الأحياء الدقيقة في الحيوانات والإنسان، وعلى السطوح الخارجيّة والتجاويف، أو في النباتات، أو في الأحياء الدقيقة الأخرى، وفي القناة الهضمية والأغشية المخاطية وعلى الجلد، وعلى الأوراق النباتية، وضمن النسج النباتية المختلفة أحياناً (الشكل 1-9).



(الشكل 1-9)

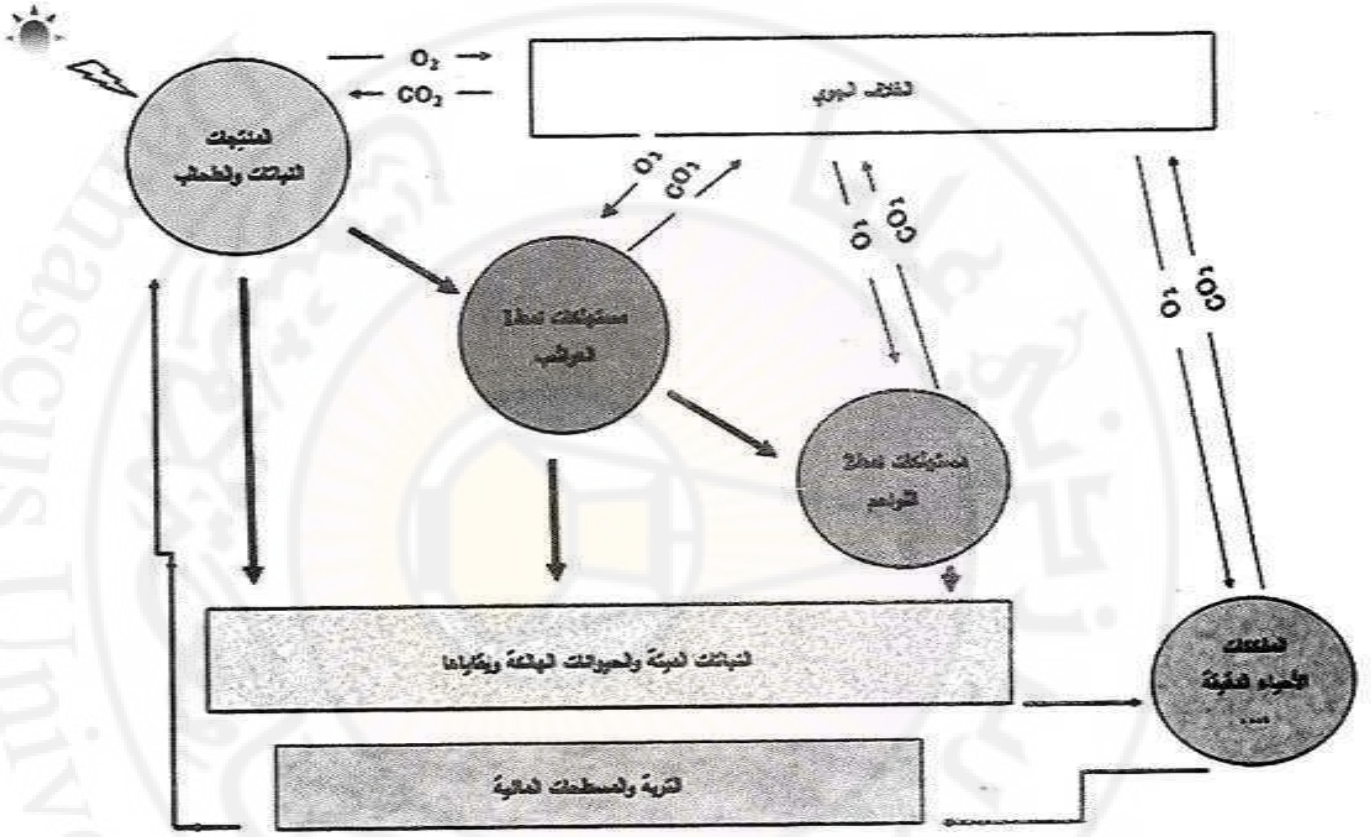
113 المعدنة Mineralization

تتميز الأحياء الدقيقة بدور كبير في المحيط الحيوي Biosphere، وتحظى بانتشار واسع، فلا يكاد يخلو مكان منها تقريباً، وتزيد كتلتها على كتلة الحيوانات نحو 25 مرة، وتعمل على تفكيك المواد العضوية المعقدة ذات المنشأ النباتي أو الحيواني - مثل: السكريات، والبروتينات، والدهون - إلى عناصر أبسط قابلة للامتصاص ومتيسرة لتغذية النباتات التي تعد في دورها غذاء للحيوانات؛ مما يسهم في تدفّق العناصر والطاقة في البيئة (الشكل 1-10)، في هيئة دورات حيوية Biological Cycles، فهي عامل أساسي في تدوير الكربون والنتروجين والفوسفور وغيرها.

فمن بين ما يزيد على مئة عنصر كيميائي هنالك أربعون عنصراً يساعد على صون الحياة واستمرارها، مثل: الكربون، والأكسجين، والنتروجين، والهدرجين، والفسفور، والبوتاسيوم، والحديد، والمنغنيز، فهي عوامل لا يمكن استبدالها في الحفاظ على خصوبة التربة، وتدخل في علاقات تعايشية Symbiotic Relationships مع النباتات والحيوانات.

تدور العناصر الكيميائية في الأوساط البيئية المختلفة والأحياء بتأثير طاقة الشمس، وتسهم الأحياء الدقيقة على نحو واضح في تفكيك المواد العضوية بعملية المعدنة Mineralization، ويمكن استعمالها في مكافحة التلوث البيئي فهي قادرة على إزالة سُميّة Detoxification المركبات الكيميائية في عملية المعالجة الحيوية للمخلفات Bioremediation.

ويمكن استعمال أنواع معينة من الأحياء الدقيقة اليوم في التخلص من الملوثات بأساليب متباينة، يمكن أن تتضمن إضافة مغذيات إلى الأحياء الدقيقة في موائلها التي تعرّضت للتلوث، أو إضافة الأحياء الدقيقة القادرة على استعمال الملوثات في الموقع، أو تُترك الأحياء الدقيقة المنتشرة طبيعياً في الموقع لتحقيق هذا الغرض.



الشكل 1-10 دورات العناصر والطاقة في المحيط الحيوي.

120 الميكروبيولوجيا التطبيقية Applied Microbiology

تهتم الميكروبيولوجيا Microbiology (علم الأحياء الدقيقة) بدراسة المجالات المختلفة لأنماط الأحياء الدقيقة، مثل:

التشريح الوظيفي للخلايا Functional Anatomy of Cells،

والاستقلاب Metabolism،

،النمو Growth،

،الوراثة Genetics،

والتصنيف Classification،

وبيئة الأحياء الدقيقة Microbial Ecology،

ودورها في المحيط الحيوي، بما في ذلك فوائدها وضررها بالإنسان والأحياء والبيئة، وأساليب مكافحتها.

وهذا ما استدعى نشوء علم جديد يعتمد على دراسة الوظائف الحيوية للأحياء الدقيقة في أوساطها البيئية المتباينة، والاستفادة منها في الممارسة العملية على المستويات المختلفة، وفي شتى المجالات، وتطوير خواصها المفيدة لخدمة الإنسان ورفاهيته وتقدمه، وهو علم الأحياء الدقيقة التطبيقي أو الميكروبيولوجيا التطبيقية Applied Microbiology.

الميكروبيولوجيا التطبيقية: فرع من علم الأحياء الدقيقة يبحث في الاستعمالات الممكنة للأحياء الدقيقة في العمليات الصناعية، وزيادة الإنتاج، وتحسين الغذاء وإنتاجه، والتخلص من المخلفات السائلة أو الصلبة، وفي حماية الصحة العامة وصون البيئة، وكذلك في العمليات التي تصبح أنشطتها فيها ذات أهمية صناعية أو تقانية.

ويمكن تقسيم علم الأحياء الدقيقة التطبيقي تسهيلاً لفهمه؛ ولتعرّف فروعه المختلفة، وفق الآتي:

* ميكروبيولوجيا التربة Soil Microbiology: تعنى بدراسة الأحياء الدقيقة المنتشرة في التربة، ولاسيما التي تزيد خصوبتها، وتحلّل المركبات العضوية إلى عناصرها اليسرة لتغذية النباتات، حيث تقوم مجموعات الأحياء الدقيقة بهذه العمليات المعقدة، وتعد زيادة أعدادها دالة على خصوبة التربة وإنتاجيتها غالباً.
* ميكروبيولوجيا المياه Aquatic Microbiology: تعنى بدراسة الأحياء الدقيقة المنتشرة في المياه ولاسيما التي تقوم بعمليات التنقية، أو التي تعدّ غذاء مباشراً للعواشب المائية المختلفة؛ إضافة إلى العوامل المؤثرة فيها ومخاطرها، كما تُعنى بمراقبة مياه الشرب وضمان وصولها إلى المستهلكين، وطرائق معالجتها، وتأمين المياه المأمونة للمستهلكين، وكذلك معالجة المخلفات السائلة.
* المعالجة الميكروبيولوجية للمخلفات Microbiological Treatment of Wastes: تعنى بدراسة الأحياء الدقيقة المفككة للمخلفات المنزلية والصناعية؛ مما يؤدي إلى تحول الملوثات إلى مواد غير ضارة بالبيئة أو بالصحة العامة. وتعدّ عملية مكافحة التلوث البيئي بجميع أنماطه بوساطة الأحياء الدقيقة مسألة ذات أهمية كبيرة في الوقت الحاضر، وربما ستزداد أهميتها في المستقبل ويتوسع استعمالها، ويتحقّق ذلك إما بتنشيط الجراثيم الأصلية، وإما بإضافة جراثيم محددة ومنشطة، وتفيد الأحياء الدقيقة الأخرى لتحقيق هذه الغاية.
* ميكروبيولوجيا الأغذية والألبان Food & Dairy Microbiology: تعنى بدراسة الأحياء الدقيقة المساهمة في صناعة الألبان أو في تحلل السليلوز داخل معدة الحيوانات المجترة.
* الميكروبيولوجيا الصناعية Industrial Microbiology: تعنى بدراسة الأحياء الدقيقة وتنميتها على أوساط رخيصة الثمن أو على

المخلفات، وكذلك بطرائق تحسين إنتاجيتها؛ بهدف الحصول على مواد مفيدة، مثل: المواد الغذائية، والأدوية، والصادات الحيوية، والحموض العضوية، والبروتينات، والإنزيمات، والوقود السائل والوقود الغازي، وغيرها.

* المكافحة الحيوية Biological Control: تعنى بدراسة الأحياء الدقيقة المهلكة للحشرات Insects والهوام والأحياء الدقيقة الضارة بالمحاصيل أو الناقلة للأمراض، وهي عادة لا تضرّ بالحشرات النافعة.
* ميكروبيولوجيا الفضاء Space Microbiology: تعنى بنقل الأحياء الدقيقة إلى الكواكب الأخرى، والبحث عن أحياء على تلك الكواكب، وكذلك تُعنى باستعمال هذه الأحياء في إنتاج الغذاء والطاقة والتخلص من الملوثات داخل المركبات الفضائية، وهي تمثّل عادة علم الحياة الخارجية Exobiology.
* الحرب الحيوية Biological Warfare BW: تعنى بدراسة الأحياء الدقيقة الوبائية، أو الضارة بالإنسان، أو بثرواته الحيوانية والنباتية، سواء مباشرة أم باستعمال منتجاتها السامة، وربما توسّع المجال ليشمل الآفات المختلفة، بعضها معروف منذ الأزل كالطاعون والجُدري والهيضة Cholera وغيرها، وأمكن تطوير بعضها وراثياً، وربما يتمكّن الإنسان من الحصول على سلالات شديدة التأثير.
* التعدين الحيوي Biomining: يعنى باستخراج المعادن كالذهب والنحاس وغيرها من الخامات التي تحتوي كمية قليلة من أي منها بفعل الجراثيم، ويفيد أيضاً في صون التربة والمياه والبيئة عموماً بإزالة المعادن الثقيلة وكذلك النظائر المشعة.

130 التقانات الحيوية Biotechnology

نشأت التقانات الحيوية باستعمال الأحياء أو مواد مستخلصة منها لصنع منتجات مفيدة للإنسان، وتمتد جذورها في أعماق تاريخ الإنسان، فالأقدمون وضعوا أصول هذا العلم في العصر الحجري قبل نحو عشرة آلاف سنة، فعملوا على تدجين الحيوانات وزراعة المحاصيل النباتية من أجل تأمين الغذاء، بدلاً من اعتمادهم الوحيد على ما يمكن جمعه وقنصه من البراري، وعرفوا أن أغذية أو مشروبات معينة تتغير خواصها عند تركها بعض الوقت (حين 2000)، فالعجينة ترتفع ويزداد حجمها، ويكون لها خواص طيبة عند تركها مدة زمنية معينة، أو تتخمر نتيجة نمو الأحياء الدقيقة الموجودة في الغذاء وتكاثرها (الشكل 1-11).



الشكل 1-11 الخميرة – العجن – الخبز.

تستعمل خميرة الخبز الغلوكوز الموجود في العجين، وتنتج غاز ثنائي أكسيد الكربون وغول الإيثانول، فيجعل غاز ثنائي أكسيد الكربون الناتج الخبز مرتفعاً ومملوءاً بالفراغات الهوائية، ويتطاير الإيثانول خلال عملية التسخين، ويترك نكهة مميزة في الخبز.

ويمكن ترويب الحليب وتحميضه بفعل نمو الجراثيم المنتجة للحموض وإنتاج اللبن، ويمكن تخيل صانع اللبن وهو يحتفظ بسلالة جرثومية مناسبة ويضيفها إلى الحليب، فيؤمن الحرارة المناسبة وظروف الحضانة المناسبة (تقانة) للحصول في النهاية على المنتج المطلوب!.

أخذت الميكروبيولوجيا الصناعية موقعاً رائداً، وتطوّر مفهومها في القرن العشرين، إذ تبلور مجمل العمليات التي وُصفت بين عامي 1900 - 1975، واكتسبت صبغة جديدة في الربع الأخير من القرن العشرين تحت اسم التقانات الحيوية الصناعية Industrial Biotechnology، نتيجة إدخال مفهوم مورثات الأحياء الدقيقة، وكان أبسط تعريف للتقانات الحيوية هو أنها التطبيق العملي للأحياء الدقيقة أو منتجاتها لعمل أو تحسين المُنتَج النهائي أو تحسين النباتات والحيوانات أو الأحياء الدقيقة، وفي تسعينات القرن العشرين كان تعريفها كالآتي: إنها استعمال حيوي لوسط أو نظم أو مواد لإنتاج خدمات أو منتجات تفيد التجارة أو الصناعة، وتشمل أربعة نشاطات: الحفظ الحيوي، والأضداد وحيدة النسيلة، واستزراع النسج، والهندسة الوراثية، ثم تضمّنت (Abdel' al 1992):

- المكافحة المتكاملة للآفات
- الهندسة الوراثية التي تتضمن:

استزراع الخلية والنسج Cell and Tissue Culture؛

الحمض النووي المؤشب Recombinant DNA (rDNA)؛

الأضداد وحيدة النسيلة Monoclonal Antibodies.

وقد أمكن إنتاج البروتينات (كالإنسولين) في الجراثيم والخمائر والخلايا المختلفة ذات الأهمية العلاجية أو الوقائية، وذات الأهمية الصناعية، وأمكن إنتاج أكثر من 200 دواء أو لقاح جديد لعلاج السرطان والبول السكري وأمراض القلب والمناعة الذاتية، والعديد من الأمراض المعدية والوبائيات وأمراض الدم والأمراض الوراثية. وهنالك مئات الأدوية الجديدة تحت الاختبار السريري لمعالجة أكثر من مئتي مرض: كالزهايمر، والسرطان، وعوز المناعة المكتسب، وغيرها...

وهنالك العديد من وسائل التشخيص الطبي التي أخذت طريقها إلى السوق...

وأدى استعمال البصمة الوراثية DNA Finger printing إلى تحسين كبير في مجال الأدلة الجنائية وحسم لقضايا عديدة في مجالات الطب الشرعي، وبالتأكيد فمعالجة الأمراض الخطيرة والمكلفة (العلاج المورثي بإدخال مورثة ما إلى الخلية لعلاج مرض معين ...) حلم للإنسان! (العتيبي ورفعت 2009).

وقد تضاف مورثة بهدف تعطيل عمل مورثة أخرى في الخلية.

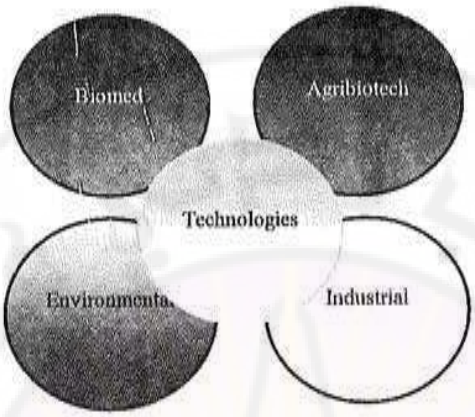
والحلم لا زال في إيجاد البدائل الخضراء Green Alternatives لكل شيء نستعمله في حياتنا اليومية، وقد بدأ العالم استعمال الوقود الحيوي Biofuel كبديل أخضر للوقود الأحفوري، وكمصدر للطاقة المتجددة Renewable، والمعالجة الحيوية للمخلفات والتفكيك النفطي بفعل الجراثيم وغيرها من الأحياء الدقيقة؛ وبالتالي مكافحة التلوث وصون البيئة، ومكافحة ظاهرة الإثراء الغذائي، وكذلك استعمال المجسّات الحيوية Biosensors المختلفة لتحديد مدى التلوث البيئي، أو مجسّات أخرى تتأثر مع الملوثات البيئية المختلفة.

ولذلك فالتقانات الحيوية تعدّ من أكثر الصناعات التي تحتاج إلى الأبحاث والتطوير Research and Development R&D، ومن المتوقع أن تجري تطبيقات عديدة وجديدة للتقانات الحيوية:

الجيل الأول في المجالات الزراعية أو الموجة الخضراء.

الجيل الثاني في المجالات الطبية أو الموجة الحمراء.

الجيل الثالث في المجالات الصناعية والبيئية أو الموجة البيضاء أو الرمادية.



وهكذا، فالمفهوم الحديث للتقانات الحيوية يشمل استعمال التقانات على المستوى الجزيئي عادة، أو على المستوى الخلوي أو على مستوى العُضيات Organelles لتحوير النظم الحيوية؛ وبالتالي إنتاج أو تحسين طريق إنتاج منتَج ما، أو بهدف أداء وظيفة معينة.

ويعني التحوير على المستوى الجزيئي إضافة/ استئصال مورثات معينة للحصول على مُنتَج جديد في الخلية أو تعطيل مورثات معينة لتأخير أو منع إنتاج بروتينات معينة في الخلية.

يُعرف أي منتَج بالتقانات الحيوية باسم Biotech Product، ويُعرف الكائن الحي المحوّر وراثياً باسمGenetically Modified Organism GMO، أو المحور وراثياً، وأحياناً تسمى الجراثيم المحورة وراثياً باسم Biotech Bugs.

التقانة الحيوية مجموعة من التقانات التي تعتمد غالباً على المقدرة التصنيعية للخلايا الحية، واستعمال الحمض النووي الدنا لتوجيه هذه المقدرة التصنيعية والتحكم فيها.

ما أُنجز حتى الآن هائل ومهم، ولكن المستقبل يفتح آفاقاً جديدة في التقانة الحيوية من الصعب التنبؤ بها، ويعود ذلك أساساً إلى الإمكانات الكبيرة للتنوّع الذي تتّصف به الجراثيم، نتيجة أحد الخصائص الآتية:

(1) الطفرة Mutation

الطفرة هي أي تغيّر موروث يطرأ على التتابع الأساسي للدنا DNA، ويكون في أساس مفرد Single Base في الطفرة النقطية Point Mutation، أو في عدد من الأسس في الطفرة عديدة الموقع Multi-site، وتكون هذه الأخيرة طفرة الحذف Deletions، أو الإقحام Insertions، أو العكس Inversions، أو التضاعف Duplications، أو الاستبدال Substitutions تحدث بسبب التأشيب Recombination أو نقل الموضع Transposition في المورّثة، ويكون التغير في المادة الوراثية قاتلاً Lethal عندما يحدث في مورثات أساسية، أو صامتاً عندما يحدث في جزء ثانوي من تتابع الحمض النووي أو في جزء غير مرمّز No-coding من المادة الوراثية.

يمثّل النمط الوراثي Genotype لكائن المعلومات المخزنة في المادة الوراثية (تتابع الأسس في الدنا)، أما النمط الظاهري Phenotype فبعيد عن النمط الوراثي، ويمكن مشاهدته أو قياسه، كالنوع المنتج للمحفظة أو المقاوم لصاد حيوي.

(2) الاقتران Conjugation

انتقال مورثات Genes معينة من خلية جرثومية إلى أخرى في هيئة بلاسميدات Plasmids عادة، وهو أمر نادر جداً، ولكنه يكسب الخلايا الآخذة صفات وراثية جديدة؛ إضافة إلى تغير وراثي في الخلية يسمح لها بالقيام بدور الخلية المانحة (المذكرة)، مثل: مورثات المقاومة للصادات الحيوية، أو انتقال جزء من الدنا بوساطة البلاسميد عند التماسّ بين خليتين Cell-to-cell Contact، ويفيد ذلك في تحديد كيفية انتقال المورثات من حيّ إلى آخر أو من نوع إلى آخر.

(3) الاستحالة Transformation

تكتسب الخلية الجرثومية المادة الوراثية (DNA) الخام من الوسط حولها طبيعياً في بعض الحالات الملائمة، وتستعمل بعضَ أجزاء المادة الوراثية في تركيب مادتها الأصلية، مما يكسبها صفات وراثية جديدة، ويحدث ذلك عند التبريد المفاجئ وإن كان عدد قليل من الأنواع يتمكّن من القيام بذلك، مثل: جراثيم *Bacillus* و *Streptococcus*.

(4) الاستنقال Transduction

تكتسب الخلية الجرثومية جزءاً من المادة الوراثية (DNA) من مضيف سابق (خلية مانحة) عند تعرّضها لعاثيات الجراثيم Bacteriophages النوعية، مما يساعد على ظهور صفات موروثة جديدة في الخلايا الأخيرة (الآخذة):

(1) يحدث الاستنقال نتيجة حدوث خطأ في مرحلة تجميع العاثيات حيث تنقل جزءاً من المادة الوراثية للمضيف بوساطة رأس العاثيات إلى مضيف آخر تتمكن هذه العاثيات من إصابته، فقد يلتحم مع دنا الصبغي بإعادة الارتباط، ويكون ذلك مهماً خاصة في الأنماط الوراثية، بينما يكون غير مهم في الخلايا المتشابهة وراثياً.

(2) ويحدث الاستنقال أيضاً في بعض العاثيات المحللة التي تكمن في صبغي المضيف، حيث تأخذ قطعة من الصبغي المجاور بدلاً من أخذ مورثة العاثيات بدقة من الصبغي، حيث تتضاعف العاثيات المقطوعة عادياً، وتدخل في رؤوس العاثيات وتتحرر ليصيب خلايا مضيفة أخرى، ولذلك فقد تدخل في دورة تحليلية، وينتج نسخاً عديدة من العاثيات مع المورثات يحملها أو تلتحم مع صبغي المضيف، وقد يكون الالتحام بإعادة الارتباط لتكوين عاثيات محللة، أو أن تحدث إعادة الارتباط بين مورثات العاثيات ومورثات صبغي الخلية المضيفة، وفي هذه الحال تمتلك دقائق العاثيات القدرة على استنقال المورثات عند معدّل عال من الاستنقال وبطريقة تخصصية.

140 تطور التخمر الصناعي
Development of Industrial Fermentation

كان الإنسان القديم يعتمد على التخمر بفعل الأحياء الدقيقة في كثير من العمليات المنزلية، حيث عُرف التخمر في الحضارات القديمة كالفرعونية (منذ 6000 سنة)، والآشورية، والكنعانية، والصينية، وآسيا الوسطى، واليونانية، والفارسية، والرومانية وغيرها، مثل:

- صناعة الخمور من العنب.
- صناعة الجِعَة Beer (البيرة).
- إنتاج الخل.
- تعطين الكتان.
- تخمير العجين.
- إنتاج الألبان.
- إنتاج كثير من الأغذية المتخمرة.

غير أن وعي الإنسان لم يدرك ماهية العلميات التي تحدث، ولم يعرف أي شيء عن الأحياء الدقيقة في ذلك الوقت المبكر، واستمر هذا الواقع حقبة طويلة جداً من الزمن.

ومنذ ألفي عام أخذت تزدهر صناعة الخمر في فرنسا، ثم في البلدان الأوروبية جميعاً، ولقد صُنع الخمر منذ غابر الأزمان في جورجيا وأرمينيا وعلى سواحل بحر آزوف، وأمكن تحضير الشرابات المخمّرة من العنب وتوت السياج والزعرور، ومنذ الخطوات الأولى لتطور صناعة العنب واجه الإنسان عملية تحميض الخمر – بسبب تكوّن الخلّ. وتعود شرابات الخبز الشبيهة بالجِعة الحالية لزمن بعيد، ويعتقد بأنه جرى تحضيرها منذ نحو 9000 سنة، وكانت تقانة تحضيرها عالية التطور في الحضارة البابلية، ومنها اقتبسها الفراعنة، والفرس، واليونان وغيرها.

وبعد آلاف السنين، تبين أن أنواعاً متباينة من الخمائر والأعفان، إلى جانب أنواع كثيرة من الجراثيم، ذات علاقة مباشرة (مفيدة أو ضارة) مع بعض العمليات الصناعية كصناعة الجِعَة، والنبيذ، والصادات الحيوية، والإنزيمات، والحموض الأمينية، وغيرها.

وتوسعت المعرفة في هذا الحقل نتيجة تقدم البحوث، وتوسّع نطاق العمليات وتركّزها في المصانع الكبيرة، وهكذا حلّت الصناعة على نحو تدريجي محل التدابير المنزلية والعمليات ضيقة النطاق. وانعكست هذه التغيرات الكبيرة انعكاساً إيجابياً جداً على الميكروبيولوجيا الصناعية التي بدت ليست فرعاً من الدراسة متزايد الأهمية وحسب؛ بل فرعاً مهماً جداً من العلوم التطبيقية، ومن أكبر هذه الفروع وأوسعها في الإمكانات، ويؤكد المقياس الاقتصادي أن الميكروبيولوجيا الصناعية حقل واسع جداً للدراسة والتطبيق والتطوير.

والميكروبيولوجيا الصناعية علم حديث نسبياً لا يتجاوز قرناً ونصف القرن في عمره، أما فنّ الميكروبيولوجيا فيعود إلى العصور القديمة، ولا يزال بعض التخمرات يعد فنّاً أكثر منه علماً حتى الآن، وبمراجعة المراحل السابقة يمكن استقراء الحاضر والتنبؤ بالمستقبل على نحو صحيح ومؤثر.

يقصد بالتخمر Fermentation أي عملية تتوسطها أو تشترك فيها الأحياء الدقيقة التي تتراكم فيها المنتَجات ذات القيمة الاقتصادية، سواء أكانت هوائية Aerobic أم لاهوائية Anaerobic، وهو في الغالب يمثّل الأكسدة غير التامة لمادة الوسط العضوية في الظروف اللاهوائية، وبذلك تكون الطاقة الناتجة عن التخمر أقل مقارنة بها في التنفس، ومن منتَجات التخمر الأكثر أهمية: البيروفات Pyruvate، واللاكتات Lactate، والفورمات Formate، ويذكر هولبرت Hulbert أن الإيتانول Ethanol عُرف منذ 10 آلاف سنة [Hulbert 1999].

ويمكن تقسيم تاريخ التخمر الصناعي إلى عدد من المراحل:

141 العصور القديمة (← 1860) Ancient Periods

تمتد منذ زمن استقرار الإنسان حتى اكتشافات باستور L. Pasteur في عام 1860، فقد كان فن التخمر الصناعي معروفاً باستعمال الأحياء الدقيقة التي كانت تُجرى على نحو تكراري باتباع الأساليب والخطوات السليمة للتخمر، ولذلك فإن الخبرة في إجراء عمليات التخمر كانت فردية وموروثة عن الأجداد، وإن كان الإنسان يفتقر للمعلومات العلمية الأساسية عن كيفية حدوث عملية التخمر.

عُرف التخمر الغولي في هذه الحقبة الطويلة، وصُنعت خميرة الخبز "لاهوائياً"، ولوحظت أهمية الهواء لبعض التخمرات، وكانت تُمارس بعض الطرائق، مثل: البسترة Pasteurization، والتلقيح Vaccination، وما يشبه التطهير Disinfection. ولم يكن في الإمكان معرفة حقيقة التخمر؛ لأن طبيعة العوامل المسببة له لم تكن معروفة، وهناك أعمال تُجرى الآن ولا تزال غير مفهومة، وكان ليفنهوك A. V. Leeuwenhoek أول من وصف الأحياء الدقيقة خلال أعوام 1677 – 1694 في رسائله إلى الجمعية الملكية في لندن.

142 اكتشافات باستور (1860 – 1863) Pasteur's Discoveries

كان التقرير الأول لباستور يبحث في تخمر حمض اللبن Lactic Acid بفعل الأحياء الدقيقة التي وصف مظهرها المجهري، وتمكّن من فصل الجراثيم عن وسط التخمر بغسل الخلايا من دون أن يتمكن من الحصول على مزرعة نقية، واستزرع الخميرة في وسط صنعي، وأثبت أن تخمر السكر يحتاج عدداً كبيراً من خلايا الخميرة، وأوضح أن التخمرات المتميزة بمنتَجات معينة، مثل: الغول، وحموض الخل والزبدة واللبن تعتمد على أنواع معينة من الأحياء الدقيقة، وأدرك أن التلوث بالأحياء الدقيقة الدخيلة يؤدي إلى تخمرات رديئة، وأن وجود عدد من المركبات في اللبن يعود لوجود عدد من الأحياء الدقيقة في وسط النمو (1861)، ودحض في الوقت نفسه نظرية النشوء التلقائي Spontaneous Generation.

باستور مؤسس علم الأحياء الدقيقة الحديث

- أثبت الطبيعة البيولوجية للتخمر اللبني (1856) والتخمر الغولي (1857).
- تمكن من تطوير طرائق التمريع، واظهار الأحياء الدقيقة المسببة للمرض، ووضع مبادئ المناعة بين عامي 1860 – 1890.
- درس فساد الجعة والخمر (1865)، واستنتج أن اصطفاء السلالة المناسبة يؤدي إلى إنتاج ثابت متماثل.



باستور Louis Pasteur
(1895 – 1822)

- وجد أن التسخين نصف ساعة إلى الدرجة 62 تقريباً؛ التي لا تضر بنكهة عصير الفاكهة وطعمها، تؤدي ذلك الغرض، ولذلك دعيت هذه الطريقة في التخمرات الصناعية باسم البسترة التي تستعمل في صناعة الألبان أيضاً.
- اهتم منذ عام 1880 بدراسة طريقة العدوى والتلقيح، وتمكن من وقاية الأبقار من الإصابة بالجمرة الخبيثة، وأطلق على المزرعة المضعفة المستعملة اسم لقاح Vaccine، المشتق من الكلمة اللاتينية Vacca وتعني البقرة.
- تمكن في عام 1885 من تحضير لقاح واق من داء الكلب Rabies الفيروسي الذي أنقذ آلاف الناس من عضات الحيوانات الأهلية والبرية المسعورة ولا يزال ضرورياً في الوقت الحاضر.
- قال: "دور الصغير جداً كبير جداً".

"The Role of the Infinitely Small is Infinitely Large"

143 الاكتشافات بعد باستور (1863 – 1900)

Post - Pasteur´s Discoveries

حصل ليستر Lister على مزارع نقية للأحياء الدقيقة في عام 1878 باتباع التخفيف المتتالي، ثم استعمل طريقة العد المجهري، وتستعمل هذه الطرائق ذاتها حتى الوقت الحاضر.

كما تمكّن الأخوان بخنر وهان Buchner Brothers & Hahn من إثبات أن تخمّر السكريات يحدث في غياب خلايا الخميرة باستعمال مستخلص الخلايا الذي يحتوي مواد تقوم بعملية التحويل (1897)؛ مما كان له الأثر في نشوء الكيمياء الحيوية Biochemistry بعد نصف قرن من البحوث حول طبيعة التفاعلات الحيوية الكيميائية، وأمكن الحصول على حمض اللبن بطريقة صناعية، واستعملت التهوية في سوائل المخمرات.

144 المرحلة بين عامي 1900 – 1940

Period between (1900 - 1940)

أُنتجت مركبات تخمرية، ولاسيما بعد الحرب العالمية الأولى، مثل: الغليسرول، والأسيتون، والبوتانول، والإنزيمات الجرثومية والفطرية.

وأُنشئت أحواض إيمهوف Imhoff Tanks التي تفيد في الهضم اللاهوائي للمخلفات السائلة المنزلية، واكتشفت عملية الحمأة المنشطة لمعالجتها هوائياً.

وعُرف عدد قليل من التخمرات، واكتشف عدد قليل من الطرائق، وأُدخلت تحسينات عديدة على التخمرات التقليدية، حيث أمكن:

- إنتاج السوربوز Sorbose وحمض الغلوكونيك Gluconic acid.
- استعمال المخمر المهتز والمهوّى Agitated & Aerated Fermentor.
- استعمال المرشحات الليفية في تعقيم الهواء.

ووصلت صناعة التخمر في هذه الفترة إلى مرحلة الاستقرار بحيث لا يمكنها النمو على نحو أسرع من اقتصادياتها.

145 المرحلة بين عامي 1940 – 1960

Period between (1940 - 1960)

ازدهرت الصناعة التخمرية بعد تطبيق اكتشاف البنسلين (تم اكتشافه في عام 1929 على يد فلمنج Alexander Fleming) في فترة الحرب العالمية الثانية في عام 1941، فاكتشفت صادات أخرى، مثل: الستربتوميسين Streptomycin، والكلورامفينكول Chloramphenicol، والتتراسيكلينات Tetracyclines، وسلسلة من الصادات الحيوية Antibiotics ذات الأهمية الاقتصادية والطبية الكبيرة؛ مما أحدث قفزة نوعية في العلاج الطبي. وأمكن الحصول على كميات كبيرة من الفيتامينات، مثل: B_2 (الريبوفلافين Riboflavin)، و B_{12} (السيانوكوبلامين Cyanocobalamin)، واستعملت الأوعية المهوّاة والرجّاجة كمخمرات هوائية، واكتشفت طريقة الدورق الرجّاج Shake Flask كوسيلة للتهوية في المختبر.

تطورت تخمرات جديدة من ضمنها إنتاج الحموض الأمينية، والستيرويدات، وبعض الصادات الجديدة، والجبرلينات، وأسهمت دراسة الطافرات المُحْصَرة استقلابياً Metabolically Blocked Mutants في زيادة المعرفة بوراثة الأحياء الدقيقة، كما وفّرت هذه الطريقة وسائل لتوجيه الأحياء الدقيقة نحو تكوين كميات كبيرة من المواد الاستقلابية الوسطية.

146 المرحلة بين عامي 1960 – 2000

Period between (1960 - 2000)

لم يحدث أي تطور يذكر في التخمرات الجديدة بعد عام 1960، باستثناء إنتاج النوَويدات Nucleotides كتوابل (منكّهة) للأغذية؛ وإنما تركّز التطور على تصنيع أجهزة القياس والتحكم في التخمرات، مثل:

- قياس الرقم الهدروجيني pH والتحكم فيه.
- التحكم في الرغوة.
- إيجاد طرائق للتحليل الكيميائي الآلي.
- التحليل الكروماتوغرافي Chromatographic Analysis للغازات الناتجة.

147 في مطلع القرن الحادي والعشرين

In the Beginning of 21th. Century

مع إطلالة القرن الحادي والعشرين، أُدخلت عمليات التحكم الآلي، وفُتحت إمكانات أتمتة مراحل التصنيع، وكذلك الإدارة والتسويق باستعمال وسائل الاتصال الحديثة. في الواقع، يجد الاختصاصي في الميكروبيولوجيا الصناعية نفسه سريعاً يخوض في خضمّ عدد من الحقول العلمية غير الصناعية من أجل التعمق في إدراك مفاهيم الميكروبيولوجيا الصناعية وتطبيقاتها، وتتضمن هذه الحقول:

- علم الخلية Cytology.
- فيزيولوجيا الأحياء الدقيقة Physiology of Microorganisms.
- ميكروبيولوجيا التربة Soil Microbiology.
- ميكروبيولوجيا المياه Aquatic Microbiology.
- علم الفيروسات Virology.
- علم الوراثة Genetics، وعلم المناعة Immunology.
- ميكروبيولوجيا الأغذية والألبان Food & Dairy Microbiology.
- الميكروبيولوجيا الطبية Medical Microbiology، وغيرها...

أما فروع المعرفة أو الدراسات التي لا تنضوي تحت لواء علم الأحياء الدقيقة عادة، فتعد فروعاً ذات أهمية بالغة للاختصاصي في الميكروبيولوجيا الصناعية، مثل: الكيمياء العضوية، والكيمياء اللاعضوية، والكيمياء الفيزيائية، والكيمياء الحيوية، والهندسة، والطب، والاقتصاد، والتسويق، والقانون - ولاسيما قانون براءات الاختراع Patents، وفوق ذلك فإن الحقول التي لا تعدّ حالياً ذات علاقة بالميكروبيولوجيا الصناعية يمكن بسهولة أن تصبح في ظروف مناسبة مادة للدراسة والبحث. ولبراءات الاختراع أهمية كبيرة في عمل الاختصاصي في هذا المجال؛ لأنها تزود المكتشف "ومعاونيه" لأية عملية تخمر أو منتج جديد بدرجة معينة من الحماية الاقتصادية.

150 مجالات الميكروبيولوجيا الصناعية

Scopes of Industrial Microbiology

تُعْنى الميكروبيولوجيا الصناعية بعزل الأحياء الدقيقة وتحديدها ابتداءً من البيئات الطبيعية كالتربة والمياه؛ إضافة إلى العناية بالظروف الفضلى للإنتاج الصناعي المرغوب فيه، في المختبر أو المصنع، في المخمرات Fomenters (المفاعلات الحيوية Bioreactors) التي يعدّ تصميمها وتعقيمها واستعمالها من الأمور المهمة جداً (الشكل 1-12). فالأحياء الدقيقة قادرة على تحويل المواد الأولية الرخيصة إلى مواد عضوية ذات قيمة اقتصادية كبيرة، وتزداد الأهمية الاقتصادية لخلايا الأحياء الدقيقة ذاتها، ولإنزيماتها الداخلية والخارجية، فهي تهدم المركبات المعقدة في البيئة وتفككها لتكوين منتجات التخمر، أو تتميز بفعل معين داخل الخلية، ومن أهم المنتَجات الطبيعية المهمة تجارياً من أنشطة الأحياء الدقيقة التي تزداد تدريجياً مع زيادة الاكتشافات الجديدة، يمكن ذكر: الصادات الحيوية، والمذيبات العضوية، والغازات، والتوابل، والحموض العضوية، والفيتامينات وغيرها (الجداول 1-1، و 1-2، و1-3).





(الشكل 1-12) التخمر Fermentation

وكذلك فإن أساليب الكشف عن المركبات الكيميائية المنتَجة بفعل الأحياء الدقيقة وتقديرها أمر لا يمكن فصله عن اهتمام الميكروبيولوجيا الصناعية، مثل: الاسترجاع والتنقية الكيميائية والتعبئة والتغليف وتسويق منتَجات التخمر.

الجدول 1-1 المركبات الكيميائية العضوية التجارية المنتجة حيوياً.
Biologically Produced Commercial Organic Chemicals

- الصادات الحيوية Antibiotics

البنسلينات Penicillins	السيفالوسبورينات Cephalosporins
الستربتوميسين Streptomycin	التتراسيكلين Tetracycline
الإريتروميسين Erythromycin	البوليمكسين Polymyxin

- المذيبات العضوية Organic solvents

الأسيتون Acetone	البوتانول Butanol
الإيثانول Ethanol	

- الحموض العضوية Organic acids

حمض اللبن Lactic Acid	حمض الليمون Citric Acid
حمض الخل Acetic Acid	حمض الفوماريك Fumaric Acid
الغلوكونيك Gluconic Acid	

- حمض بولي بتا هدروكسي الزبدة

Poly-beta hydroxybutyric Acid

- الإنزيمات Enzymes

الأميلاز Amylases	الأنفحة Rennin
الكتلاز Catalases	السليلاز Cellulases
البروتياز Proteases	البكتيناز Pectinases
الليباز Lipases	اللاكتيناز Lactinase

- الحفازات الكيميائية

مدى واسع منها، والمستعملة لتراكيب كيميائية أخرى لمنتجات ذات قيمة اقتصادية.

يتبع الجدول 1-1

- المبيدات الحيوية Biocides

المبيد الجرثومي *Bacillus thuringiensis*

- الغازات:

الهدرجين H_2 ثنائي أكسيد الكربون CO_2 الميثان Methane

- الستيرويدات Steroids
- الغلسيرول Glycerol
- الشحوم Lipids

الحموض الدسمة الحرّة Free Fatty Acids
الغلسريدات الثلاثية Triglycerides
إستر الإسترول Esterol ester
الإرغوسترول Ergosterol
الشحوم الفسفورية Phospholipids

- عديدات السكر Polysaccharides

الزنتان Xanthan
الألجينات Alginate
الكوردلان Curdlan
البولولان Pullulan
الدكستران Dextran
السيكلروغلوكان Scleroglucan

- المثبطات المناعية Immunosuppressants

السيكلوسبورين Cyclosporine

مواد منتجة بالتعديل الوراثي [أحمد والنواوي 1999]

بعض سلالات الخميرة (في المركز القومي البريطاني للتقانات الحيوية - 1991):
الهيموغلوبين (مما يسمح لاحقاً بإنتاج دم حقيقي للإنسان وليس بلازما فقط).
بطارية الخميرة Yeast Powered Cell: توليد الكهرباء (تكفي لتشغيل ساعة رقمية أو آلة حاسبة).

الجدول 1-2 المركبات الكيميائية العضوية التجارية المنتجة حيوياً/2.

- الأغذية

الأجبان — اللبن

المخللات — الخميرة

الخبز — الخل

- التوابل

غلوتامات أحادية الصوديوم — النوويدات

- المشروبات

النبيذ — الجعة

المشروبات المقطرة

- البروتين

من الخمائر (بروتين الخلية المفردة Single Cell Protein).

من *Fusarium graminearum* ويدعى الكورون Quron البديل عن اللحم (نكلين وآخرون 2008).

- الحموض الأمينية

L- غلوتاميك — L- ليزين

- الفيتامينات ومحفزات النمو الأخرى

الفيتامين B_{12} — الفيتامين A

الفيتامين B_2 — الجبرلينات Gibberellins

البيوتين Biotin

خميرة الخبز Baker's Yeast

الجدول 1-3 المنتجات الكيميائية في المجال الصيدلاني ومنتجات التقانات الحيوية المرتبطة بها.

Hurlbert (1999). http://www/slic2.wsu.edu:82hurlbert

1. vitamins	الفيتامينات
2. amino acids	الحموض الأمينية
3. nucleic acids	الحموض النووية
4. antibiotics	الصادات الحيوية
5. alkaloids	القِلْوانيات
6. steroids	الستيرويدات
7. non-steroid hormones/ cell regulators/ cytokines:	الهرمونات غير الستيرويدية/ منظمات الخلية/ السيتوكينات:
a. epidermal growth factor	عامل النمو البشراوي
b. proinsulin	بروإنسولين
c. insulin	إنسولين
d. human growth hormone	هرمون نمو الإنسان
e. somatostatin	سوماتوستاتين
f. interferons	إنترفيرونات
g. platelet – derived growth factor	الصُفيحات
h. fibroblast growth factor	عامل نمو الفبروبلاست
i. tumor necrosis factor	عامل النخر الورمي
j. other cytokines are coming on line all the time	السيتوكينات الأخرى
8. blood coagulating factor XIII	عامل التخثر الدموي XIII
9. transgenic plants and animals	النباتات والحيوانات المحورة وراثياً
10. restriction enzymes	إنزيمات التقييد
11. plasmids	البلاسميدات
12. other enzymes (e.g. ligase, DNA polymerases etc.) used in molecular biological researches	إنزيمات أخرى

160 الأحياء الدقيقة والمستقبل

Microorganisms and Future

يسبب بعض الأحياء الدقيقة المرض للنباتات أو الحيوانات أو الإنسان، ويتمكن بعضها الآخر من مكافحة الآفات والأمراض بما ينتجه من مركبات كيميائية والعديد من العقاقير الطبية، ويستعمل بعض أنواع الأحياء الدقيقة منذ زمن بعيد في عمليات إنتاج الغذاء: كالخبز، والجبن، والمشروبات الغولية، والتوابل، وغيرها. ويمكن الاستفادة من استعمال الأحياء الدقيقة في فهم الاستقلاب الخلوي والوراثة وغيرها، وهي كذلك قادرة على إنتاج أعداد هائلة من الأفراد خلال زمن قصير، إلى جانب انخفاض الكلفة، ولا يعترض الإنسان عادة على استعمالها في التجارب عليها.

من المؤكد أن الميكروبيولوجيا الصناعية ستتمكن من اكتشاف صادات جديدة وأكثر فاعلية، وفي الوقت نفسه ستظهر سلالات مقاومة تسبب مشكلات مؤثرة، لكنها ستبقى ضمن التحكم نتيجة اكتشاف صادات جديدة أو بسبب العمل على تعديل الصادات الموجودة منها. ومع استئصال الأوبئة، من المحتمل أن تظهر أنماط جديدة من الأمراض تكون ذات تأثير واضح في البداية، وهذا ما حصل ويحصل فعلاً، ومن المتوقع أن يجري التحكم في الاضطرابات الوراثية.

ويمكن أن يُحدث إنتاج المركبات العلاجية الجديدة ثورة كبيرة، مثل الإنترفيرون Interferon والعوامل المضادة لتخثر الدم من المورثات البشرية أو الحيوانية، وسوف يتقدم الطب الاجتماعي، ولاسيما الرعاية الصحية، إلا أن المجتمعات التي تتمتع بهذه الرعاية الصحية العالية ستفقد مناعتها ضد الأمراض العادية، وعلى العلماء أن يبقوا متيقظين لعودة الأمراض الوبائية التي أصبحت منسية.

من المتوقع أن تتوسع استعمالات الأحياء الدقيقة تحت تأثير الاقتصاد فقط، مثل إنتاج المواد التي يصعب تركيبها كيميائياً، وستزداد أهميتها في تصنيع مواد أخرى أكثر كلفة زيادة ملموسة، كالستيرويدات (موانع الحمل غير الموضعية).

وفي المستقبل، سوف تتطور عمليات إنتاج الغول والمشروبات التقليدية وعمليات التخليل أو التخمير البسيطة باستعمال الأحياء الدقيقة، غير أن الأهمية الأساسية للأحياء الدقيقة ستتمحور في إنتاج الغذاء للإنسان، ولاسيما تلك التي يمكن الحصول عليها باستزراع الجراثيم على المخلفات، والمشكلة الأساسية تتعلق بالطعم ولكن بني الإنسان سيتقبلونها بعد إضافة المنكّهات المختلفة بهدف الاستساغة، ومن المؤكد أن الإنسان سيغير من عادات تناول الطعام وفقاً لهذه التطورات، وربما يأتي وقت يتعجب فيه من عادات أسلافه الوحشية الذين كانوا يربون الحيوانات ويقتلونها ليأكلوا لحومها.

وستسهم الأحياء الدقيقة أيضاً في الاقتصاد الإجمالي، فاستناداً إلى فهم دور الأحياء الدقيقة في دورات العناصر الكيميائية سيتصدى علم الأحياء الدقيقة لحل مشكلات معالجة المخلفات التي ستتميز بأهمية بالغة في المستقبل نتيجة أعداد السكان الكبيرة المتوقع الوصول إليها، وكذلك بالنسبة لرواد الفضاء للتخلص من المخلفات وتأمين الغذاء في الرحلات الطويلة، عندئذ لا بد من إقامة تقانة للأحياء الدقيقة لتدوير البيئة الكيميائية التي يسكنها رواد الفضاء، وهنا يكون فهم الأحياء الدقيقة الأرضية وعلاقة بعضها مع بعض ومع البيئة ذات أهمية قصوى.

إضافة إلى ما سبق، فإن الأحياء الدقيقة سوف تبقى تثري معارف الإنسان بالأحياء الأخرى، إذ إن المعلومات التي بيّنتها الدراسات على جراثيم العصية المعوية *E. coli*، مع نشوء علم الحياة الجزيئية Molecular Biology، أثبتت صحتها على مستوى الكون بمجمله بكل ما تحمل هذه الكلمة من معنى. وترتبط الأهمية الحقيقية لتطبيقات الأحياء الدقيقة مع التقدم العلمي الحاصل، وربما لسوء الحظ أن العلم محايد بالنسبة للقيم والمبادئ الأخلاقية، وهو كذلك لا يعود إلى الوراء، ونتائجه تأتي وفق ما يصنع الإنسان، وهذا هو أشد جانب من جوانبه هولاً ولاسيما للعلماء، ولقد كان التقدم العلمي دائماً عرضة لسوء الاستعمال !!.

أسئلة للمناقشة



- ما أهمية تنوّع الأحياء الدقيقة وأماكن توزّعها في التطبيقات الصناعية؟.
- أوضح مفهوم: الميكروبيولوجيا التطبيقية، والميكروبيولوجيا الصناعية.
- هناك آفاق جديدة للتقانات الحيوية نتيجة إمكانات تنوّع الجراثيم بسبب:
- عدّد من دون شرح المراحل التاريخية لتطور الميكروبيولوجيا الصناعية.
- ما أهم المنتجات الطبيعية التي يمكن الحصول عليها من الأحياء الدقيقة؟.
- عدد أهم تطبيقات الميكروبيولوجيا الصناعية فقط في المجالات المختلفة.
- ما دور تقنيات الهندسة الوراثية في تطوير الميكروبيولوجيا الصناعية؟.

Damascus University

المراجع References

- **أحمد، محمد علي - النواوي، محمد عبد الرزاق (1999).** الفطريات الصناعية. الدار العربية للنشر والتوزيع، مدينة نصر.
- **بوستجيت؛ جون Postgate John (1996).** الأحياء الدقيقة والإنسان، ترجمة جميل الضحاك، سلسلة العلوم 23، منشورات وزارة الثقافة، دمشق.
- **جين، ل. ماركس Jean L. Marx (2009).** ثورة في التكنولوجيا الحيوية. ترجمة هاشم أحمد محمد، مراجعة إبراهيم عبد المقصود إبراهيم، مكتبة الأسرة 2009، الهيئة المصرية العامة للكتاب، القاهرة.
- **ساجدي، عادل جورج - محمد علي، علاء يحيى (1987).** الميكروبيولوجيا الصناعية، الجزء الأول، أساسيات التخمرات الصناعية، جامعة البصرة.
- **العتيبي، سعد بن عايض - رفعت، محمود محمد (2009).** مقدمة في التقنية الحيوية. كلية العلوم بجامعة الطائف، الطائف، المملكة العربية السعودية. الطبعة الأولى 2009.
- **علي نظام، عدنان (2004).** ميكروبيولوجيا المياه. منشورات جامعة دمشق، كليّة العلوم.
- **علي نظام، عدنان - الأشقر، كمال (2007).** بيولوجيا الأحياء الدقيقة. منشورات جامعة دمشق، كليّة العلوم.
- **نيكلين، جين J. Nicklin- غريم - كوك، ك - كيلينجتون، ر (2008).** مقدمة في علم الأحياء الدقيقة Instant Notes Microbiology، ترجمة الخليل، ع - عارف، إ - حسين، م، منشورات جامعة الملك سعود، النشر العلمي والمطابع، المملكة العربية السعودية.

- **Abdel' al Z., (1992).** The need for a strategic approach to integrate biotechnology into developing countries. Workshop (abstr) Amer. Soc. Hort. Sci. 89th. Annual meeting, Hawaii USA.
- **Brock T., Madigan M., Martinko J., Parker J., (1994).** Biology of Microorganisms, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey 07632.
- **Gutina V. H., (1988).** Essays in History of Microbial Physiology. Moscow, Nauka, 200p. (p. 70, 83, 88).
- **Joklik W. K., Willett H. P., Amos D. B., (1980).** Zinsser Microbiology, Seventeenth Edition. Copyrghit © by Appleton-century-crofts, A Publishing Division of Prentice-Hall, Inc.
- **Hulbert R., (1999):** http: //www.slic2.wsu.edu: B2/hurlbert/ micro101/ pages/chap 19. Html# Ethanol production.
- **Prescott Lansing M., Harly John P., Klein Donald A. (1996).** Microbiology, Wm. C. Brown Publishers, Copyedited by Beatrice Sussman, 935 p.
- **Schlegel H. G. (1985).** General Microbiology, second Edition, Moscow, Mir, 1987.

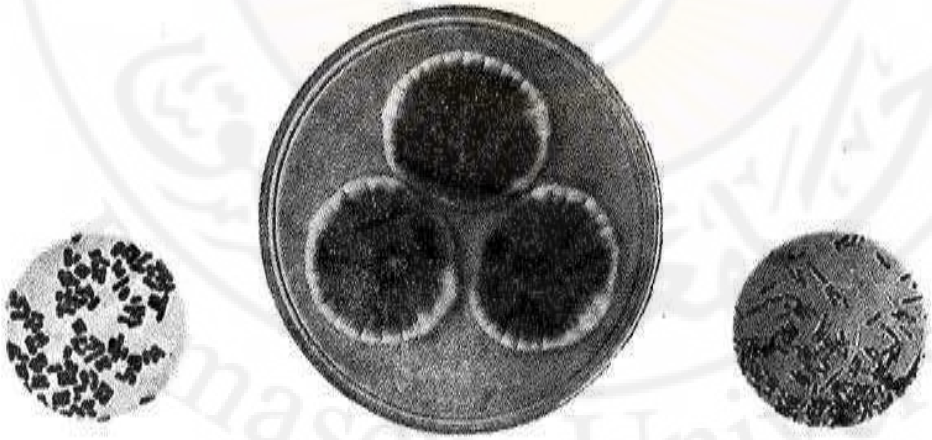
Damascus University

الأحياء الدقيقة الصناعية

Industrial Microorganisms

يتوقع من المتعلم في نهاية الفصل أن يكون قادراً على أن:

- يصف خصائص بعض الأحياء الدقيقة الصناعية.
- يربط بين تنوّع الأحياء الدقيقة وتباين إمكاناتها في الصناعة.
- يحدّد الاحتياجات الغذائية للأحياء الدقيقة.
- يستنتج الأهمية التقنية لمنحنى النموّ.
- يسلسل طرائق تقدير النمو الكمّيّ للأحياء الدقيقة الصناعية.
- يبيّن نمطيّ المنتَجات الصناعية للأحياء الدقيقة.
- يقدّر أهمية المعرفة الدقيقة في التطبيقات الصناعية للأحياء الدقيقة.



مفاهيم مفتاحية

□ **الأعفان Molds**

مظهرها زغبي أو قطني، الجزء الأساسي من النمو بلون أبيض أو ملون أو بلون دخاني، ويمكن الاعتماد في تصنيفها على خصائص الأبواغ الناضجة.

□ **الخمائر Yeasts**

وحيدة الخلية لها نمطان جنسي ولاجنسي، ويمكن تشخصيها اعتماداً على الصفات التكاثرية وفاعلية الأنواع في التخمر واستعمال السكريّات.

□ **الجراثيم البروبيونية Propionibacteria**

جراثيم قادرة على إنتاج حمض البروبيونيك، وتخمر السكريات إلى حموض أخرى، إلى جانب حمض اللبن.

□ **النكليوتيد Nucleotide**

جزيء يتكوّن من سكر ترتبط معه مجموعة فُسفات وقاعدة عضوية، وتعد النكليوتيدات وحدات بناء الحموض العضوية.

□ **الأحياء مختلطة التغذية Myxotrophs**

تتّصف هذه الأحياء مثل بعض الجراثيم بقدرتها على تغيير أسلوب التغذية وفقاً للظروف البيئية، مثل نمو ذاتيات التغذية الضوئية في الظلام، أو قابلية بعض الأنواع لاستعمال مواد عضوية أو لاعضوية.

□ **عوامل النموّ Growth factors**

مجموعة من المواد العضوية المعقدة يجب إضافتها إلى وسط النمو، حيث تفيد عمل الإنزيمات أو تدخل كسلف في تكوين مادة عضوية خلوية.

□ **الإنترلوكينات Interleukins**

مجموعة من البروتينات تنقل إشارات النمو والتطور بين الخلايا المناعية، وتكون ضرورية لزيادة الاستجابات المناعية الطبيعية، والإنترلوكين – 2 ربما يفيد لعلاج السرطان والإيدز.

تفتقر الفطريات إلى صباغ اليخضور؛ مما يجعلها أحياء غيرية التغذية Heterotrophs، ولذلك فهي تحصل على غذائها إما من المواد العضوية اللاحية Organic Substances؛ فتكون رميّة Saprobes، وإما من مضيفاتها الحية؛ فتكون طفيلية Parasites، وإما أن تتبادل المنفعة الغذائية مع غيرها من الأحياء؛ فتكون متعايشة Symbiotic.

يوجد نحو 100 ألف نوع من الفطريات، ولها دور مهم في بيئاتها نظراً إلى تأثيرها الكبير في المواد المختلفة، إلى جانب أهميتها في المجالات الصناعية، وتتميز الفطريات بصفات مهمة تفيد في تحديدها وتعريفها، وأهمها:

(1) الأفطورة (المسليوم) Mycelium التي تبدو شفافة أو معتمة، ملونة أو عديمة اللون.

(2) الخيط الفطري الذي يكون مقسماً أو غير مقسم.

(3) إمكان تكوين أبواغ جنسية (الشكل 2-1).

(4) نمط الأبواغ اللاجنسية ومظهرها المجهري (الشكل 2-2)، وفي الدرجة الأولى الأبواغ الكونيدية: الشكل، والحجم، واللون، والنعومة، أو الخشونة، أو غيرها من الصفات.

(5) المظهر المجهري لحوامل الأبواغ Sporophores: بسيطة، أو متفرعة، أو مركبة:

أ. الأكياس البوغية: الحجم، واللون، والشكل، والموقع.

ب. الكونيدات: - مفردة، أو سلاسل، أو متبرعمة، أو كتل.

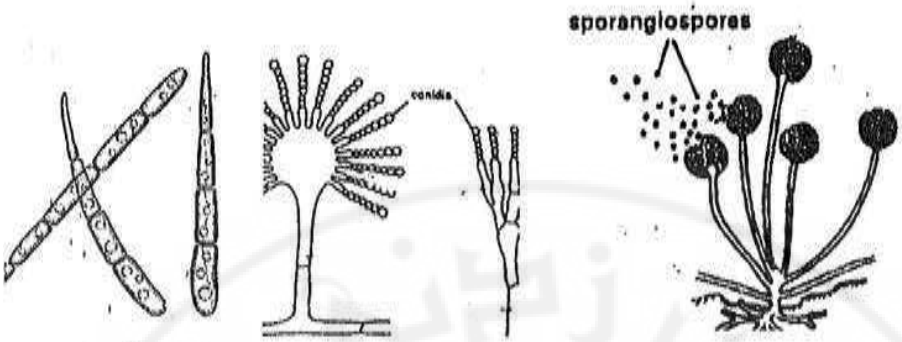
- شكل الذنيبات وترتيبها.



الشكل 2-1 الأبواغ الجنسية في الفطريات

1. الأبواغ البيضية Oospores 2. اللاقحية Zygospores

3. الزقية Ascospores، 4. الدعامية Basidiospores



2. Conidia 1. Sporangiospores

الشكل 2-2 الأبواغ اللاجنسية في الفطريات

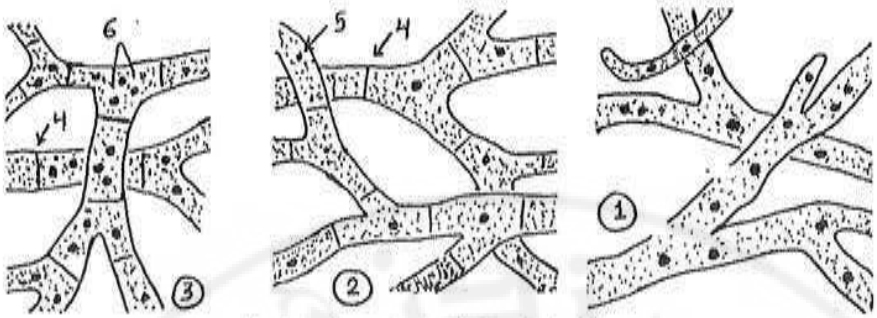
1. الأبواغ الكيسية Sporangiospores.

2. الأبواغ الكونيدية Conidiospores (الكونيدات Conidia).

211 الأعفان Molds

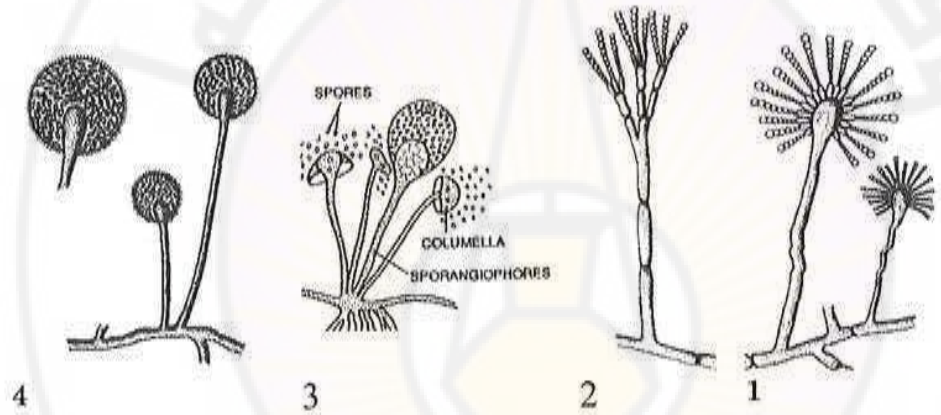
يزيد عدد ممثلات الفطريات الناقصة Fungi imperfecti على 10 آلاف نوع، وهي لا تتكاثر جنسياً، وربما تمثّل أطواراً كونيدية للفطريات الزقية أو الدعامية لم يُكتشف طورها الجنسي بعد، ولها أهمية صناعية كبيرة.

يمكن تمييز نمو الأعفان عديدة الخلايا على الأغذية بسهولة اعتماداً على مظهرها الزغبي أو القطني، ويبدو الجزء الأساسي من النمو بلون أبيض وقد يكون ملوناً أو بلون دخاني، وتدل الأبواغ الملونة على نضج الأعفان، وتُكسِب الأبواغ اللون لبعض النمو أو لمجمله. تفيد أشكال الأعفان، عياناً أو مجهرياً، في تشخيصها وتصنيفها، ويتكون العفن من خيوط فطرية Hyphae (الشكل 2-3) يؤلف مجموعها الأُفطورة Mycelium (الشكل 2-4)، وتصنف إلى البيضيات أو اللاقحيات إذا كانت غير مقسمة بحواجز عرضية، وإلى الزقيات أو الدعاميات إذا كانت مقسمة؛ مقارنة بالفطريات الناقصة التي تكون مقسمة وذات أبواغ لاجنسية فقط.



الشكل 2-3 أشكال الخيوط الفطرية

1. الخيوط الفطرية غير مقسمة. 2. الخيوط الفطرية مقسمة إلى خلايا وحيدة النواة.
3. الخيوط الفطرية مقسمة إلى خلايا عديدة النواة. 4. حاجز. 5. نواة. 6. نوى عديدة.



الشكل 2-4 الأجسام الثمرية وتوضّع الأبواغ في الفطريات

(1) *Aspergillus*، (2) *Penicillium*، (3) *Rhizopus*، (4) *Mucor*

وتفيد أشكال الأبواغ اللاجنسية في تشخيص أجناس الأعفان وأنواعها، وتتباين الأبواغ الكيسية في الحجم والشكل واللون، ولا تختلف الكونيديات عن ذلك ولكنها قد تكون ملساء أو خشنة، أو تكون مفردة أو مزدوجة أو عديدة الخلايا، وكذلك يفيد شكل الخيوط الفطرية الخصبة والأبواغ اللاجنسية الموجودة عليها في تشخيص الأعفان. وغالباً ما يكون إلقاء نظرة سريعة على المظهر العام للرأس البوغي كافياً لتشخيص الجنس، أما الأعفان التي يمكنها تكوين الأبواغ الجنسية فتقسم على أساس طريقة تكوين الأبواغ ونوعها.

والأعفان أكثر قدرة على التكيف مع الظروف البيئية القاسية مقارنة بالأحياء الدقيقة الأخرى، فمعظمها هوائي، ويمكنها تحمّل الجفاف، والغلوكوز مصدر للكربون ملائم لمعظم الأعفان؛ إضافة إلى العديد من المواد العضوية الأخرى، وتتميّز بمردود عال في الإنتاج الصناعي، ومن أهم هذه الأعفان:

- *Rhizopus* و *Mucor* من اللاقحيات (الازدواجيات).
- *Penicillium* و *Aspergillus* من الناقصات.

212 الخمائر Yeasts

تفيد الصفات التكاثرية وفاعلية الأنواع في التخمر واستعمال السكريات في تشخيص الخمائر، حيث توضع الخمائر (الجنسية) المكونة للأبواغ الزقية الحقيقية في فصيلة Saccharomycetaceae، أما في فصائل Cryptococcaceae أو Rhodotorulaceae أو Sporobolomycetaceae فتوضع الخمائر (اللاجنسية) التي لا يمكنها تكوين الأبواغ الزقية، وهنالك بعض المعايير المستعملة في تقسيمها مثل:

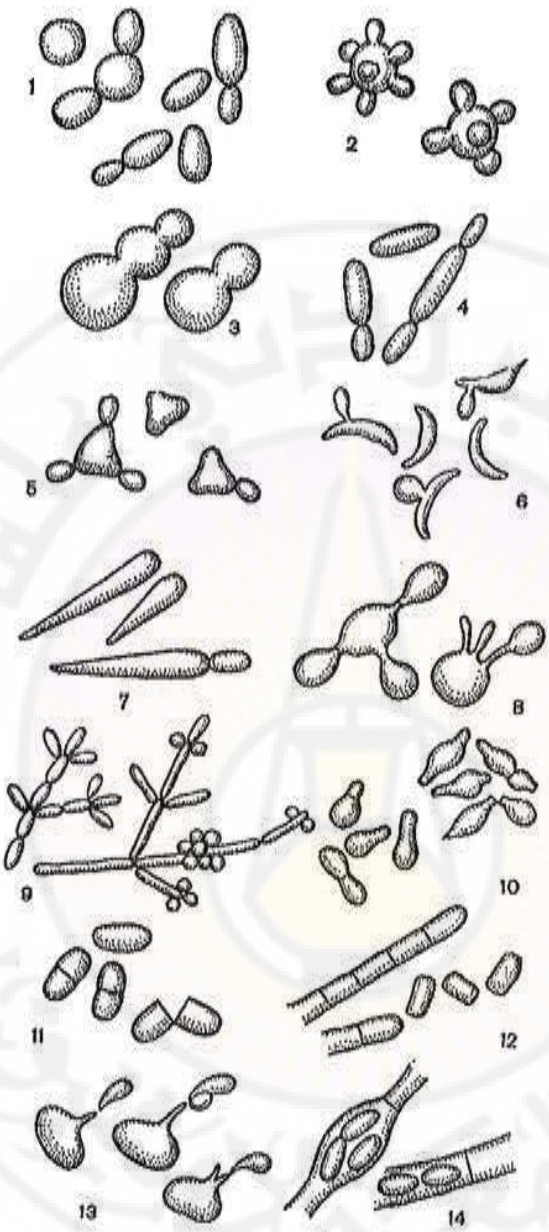
(1) القدرة على تخمر سكريات معينة.

(2) معدل التخمر.

(3) استعمال مصادر معينة للكربون والنتروجين.

(4) إضافة إلى الخواص الحيوية الكيميائية.

وتفيد المراقبة المجهرية في تحديد أشكال الخمائر، وهي عادة وحيدة الخلية، ولها أشكال متفاوتة من الكروي إلى البيضوي إلى الإهليلجي، ومن الأسطواني إلى المتطاول حتى الخيطي، وقد تكون في هيئة المثلث أو تتطاول لتكوين أفطورة زائفة أو حقيقية (الشكل 2-5)، وتتفاوت أبعاد الخلية في الخميرة بين 1 - 5 × 5 - 30 ميكروناً، ويختلف حجم الخميرة وشكلها باختلاف العمر والظروف البيئية، وهي غير متحركة إطلاقاً.



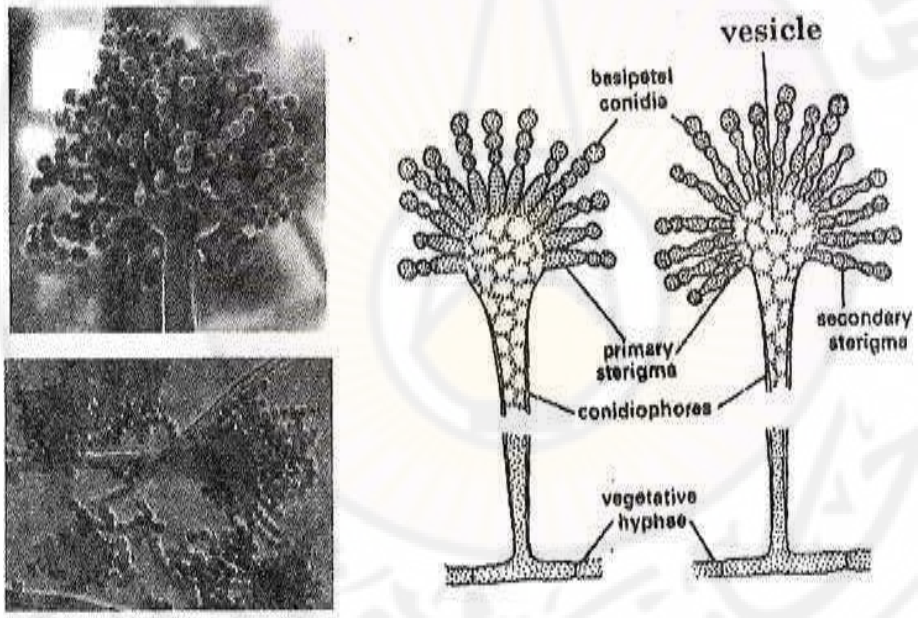
الشكل 2-5 أشكال الخمائر Yeasts

1. كروية، بيضوية 2. عديدة السطوح 3، 4. قطبية التبرعم 5 - 7 مثلثية، منجلية، سهمية 8. إعاشية شاذة بنموات طولية 9. أفطورة زائفة 10. تكوين حاجز عرضي في حالة عدم الانفصال 11. منشقة 12. أفطورة تتوضع على أبواغ مفصلية كالخط المنكسر 13. قائفة 14. أبواغ داخلية.

ومن الفطريات المهمة في الاقتصاد، والمستعملة فعلاً في التطبيقات الصناعية بهذه الطريقة أو تلك، الأنماط الآتية:

- الأسبرجلوس *Aspergillus*

أعفان واسعة الانتشار في الطبيعة، رمية توجد في الطبقات العليا من التربة عادة، وعلى مختلف المنتجات الغذائية ولاسيما النباتية، مستعمراتها سوداء أو زرقاء مخضرة أو غير ذلك، قادرة على تفكيك مختلف المواد المعقّدة، تسبب تلوث أوساط الاستزراع في المختبرات، والأغذية، والجلود، والملابس، ويمكن أن تسبب المرض للحيوانات والإنسان، وتتميّز بإنتاج جملة من الإنزيمات الخارجية، ويستعمل بعض أنواعها في التقانات الحيوية (الشكل 2-6).



الشكل 2-6 الأسبرجلوس *Aspergillus*

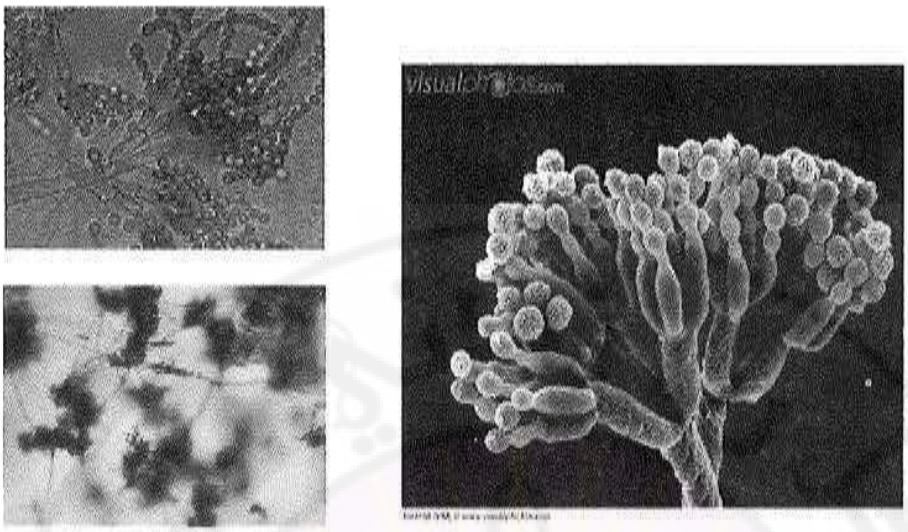
الخيوط الفطرية الإعاشية Vegetative hyphae، حوامل الأبواغ الكونيدية Conidiophores، الحويصل Vesicle، الزوائد القارورية Sterigma، الأبواغ الكونيدية Conidia.

A. niger العفن الأسود	يُستعمل لإنتاج الحموض العضوية، مثل: حمض الستريك Citric والغلوكونيك Gluconic، والأوكزاليك Oxalic، وإنتاج الفيتامين C، وإنتاج الإنزيمات: الأميلاز α-amylase، والبروتياز Proteases.
A. wentii	يُستعمل لإنتاج بعض الأغذية المختمرة (واينرايت 2004).
A. flavus	يُستعمل لإنتاج الغول والجعة، ونوعاً من الصادات الحيوية Aspergillic acid.
A. oryzae	يُستعمل لإنتاج الأميلاز α-amylase.

- البنسليوم *Penicillium*

أعفان واسعة الانتشار في الطبيعة، رمية تنتشر في التربة، وعلى المنتجات الغذائية والخبز الرَّطِب والخضار وغيرها، وتكون الأُفطورة الحاجزية بيضاء في البداية ثم تتلوّن بالأزرق المخضر أو المصفرّ، وينتمي إلى هذا الجنس أكثر من 200 نوع، يستعمل بعضها لإنتاج الحموض العضوية، والأجبان والبنسلين، وبعض الإنزيمات والفيتامينات، وهي تلوث ثمار الموالح، وقد تفسد الأجبان في الثلاجات وبعض الأغذية، وتقوّض الجلود والملابس (الشكل 2-7).

العفن *P. notatum*	يُستعمل لإنتاج عدد من الصادات الحيوية: Patulin، Ezpansin، Claviformin، وربما Penicillin.
P. chrysogenum	يُستعمل لإنتاج كميات كبيرة، تزيد 50 مرة على النوع السابق، من البنسلين Penicillin الشهير واسع الطيف ضد الجراثيم الخطرة، ويُستعمل لإنتاج حمض الغلوكونيك.
P. roqueforti	يُستعمل لإنتاج جبن الروكفورت Roquefort cheese المميز، بتأثير الإنزيمات المحوّلة للسكريات والبروتين والشحوم إلى حموض وغيرها من المواد التي تكسبه النكهة المميزة.



الشكل 2-7 البنيسيليوم *Penicillium*

حوامل الأبواغ الكونيدية Conidiophores، الفروع الأولية Branches والثانوية metulae، الزوائد القارورية Sterigma، الأبواغ الكونيدية Conidia.

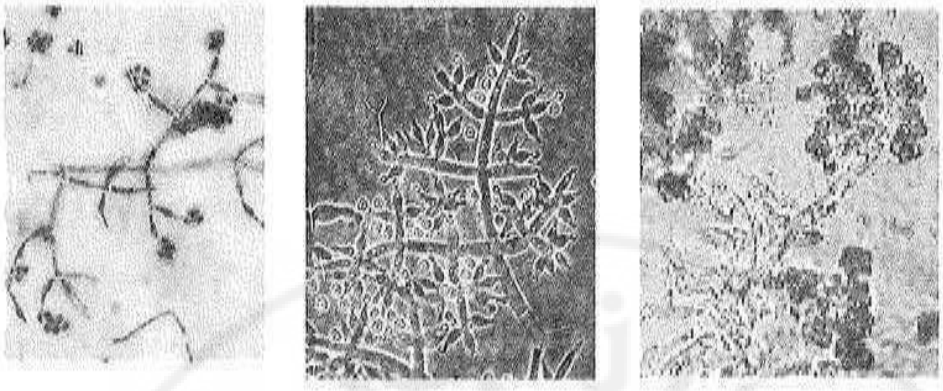
- التريكودرما *Trichoderma*

أعفان واسعة الانتشار في التربة، والأفطورة غير ملونة عادة أو فاتحة اللون، وتكون المستعمرات بيضاء أو صفراء أو خضراء فاتحة أو قاتمة اللون على الأوساط الغذائية في المختبر (الشكل 2-8)، وتتميز بإنتاج كبير للإنزيمات المفككة للسليلوز؛ ولذلك فهي تستعمل في الإنتاج الصناعي لهذه الإنزيمات تجارياً، وكذلك في تفكيك المخلفات السليلوزية إلى سكر الغلوكوز، وبعضها ممرض للنباتات، وأنواعها مهمة في المكافحة الحيوية للأمراض الفطرية والجرثومية، فهي تتميز بقدرة تصادية لنمو الأحياء الدقيقة وتنحصر آلية التأثير بإنتاج مجموعة من الصادات الحيوية، وتركيب بعض الإنزيمات التي تحلل الجدار الخلوي للعوامل الممرضة، كما تُظهر في ظروف التربة قدرة تنافسية عالية مع الأحياء الدقيقة الأخرى (Horman *et al.* 1980, Papvizas, Lumsden 1980, Ayers, Adams 1981, Iacobs, Kamoen 1986).

تنتشر أنواع عفن التريكودرما في الترب السورية، وهي تتوزع بكثرة في الطبقة السطحية، ويرتبط وجودها اللافت مع بقايا الأشجار الغنية بالسليلوز والنفضية، وغابات الصنوبر والسنديان (القساطل) وغابات الصنوبر في طرطوس.

وتنخفض غزارة هذه الفطريات أو تغيب في الترب الزراعية، حيث تبين أن ذلك كان واضحاً في ترب الفصة والقمح.

العفن الأخضر *T. viride*	يُستعمل هذا النوع لإنتاج البروتياز، ويمكن استعماله في المكافحة الحيوية ضد مسببات مرض تعفُّن جذور القمح كفطر مضاد (Kumar *et al.* 1993)؛ وتبين أن خليطه مع الفطر *Glomus epegaeus* يعطي نتائج أفضل.
T. koningi	أظهر فاعلية إيجابية في المختبر ضد أنواع من الفطريات الممرضة للنباتات (Heller 1994)، فهو ينتج الصاد الحيوي الفيريدين Viridin (Meyer 1966).
T. harzianum	تبدي عزلاته فاعلية تصادية لنمو الفطريات الأخرى والجراثيم. ويمكن استعمال هذا النوع الفطري في المكافحة الحيوية ضد مسببات مرض تعفُّن جذور النجيليات.
T. polysporum	تبدي عزلاته فاعلية تصادية لنمو الفطريات الأخرى والجراثيم. ويمكن استعمال هذا النوع في المكافحة الحيوية ضد الفطريات مسببات تعفُّن جذور الشوندر السكري: *Alternaria*، *Fusarium*، *Pythium* [Abada 1994]. يُستعمل لإنتاج السيكلوسبورين [Wainwrght 1992].

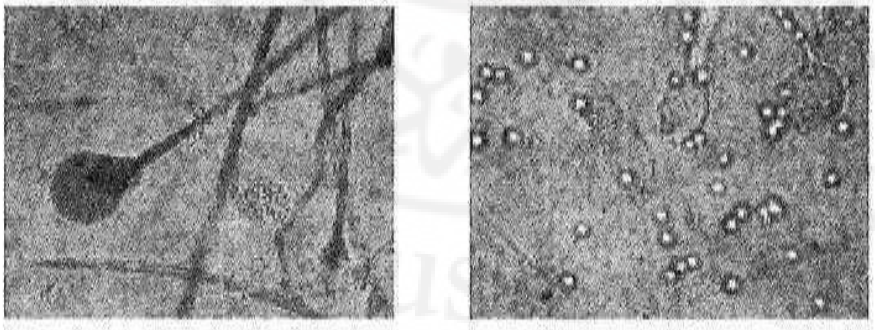


الشكل 2-8 التريكودرما *Trichoderma*

- الموكور *Mucor*

أعفان واسعة الانتشار في الطبيعة، رمية وتنتشر في الطبقات العليا من التربة، وتدعى العفن الأسود Black mold، الأفطورة عديمة الجدر العرضية، وإن كانت الجدر تظهر لعزل الأجزاء القديمة وعند تكوين البنيات التكاثرية (الشكل 2-9)، وأبواغها من أكثر الأبواغ الفطرية سرعة في النمو، تلوث أوساط الاستزراع في المختبرات عادة [أحمد 2004].

M. mucedo	يُستعمل لإنتاج الغول بالتخمر.
M. javanicus	يُستعمل لإنتاج الغول بالتخمر.
M.ramannianus	يُستعمل لإنتاج الصاد الحيوي Fusidic acid.



الشكل 2-9 الموكور *Mucor*

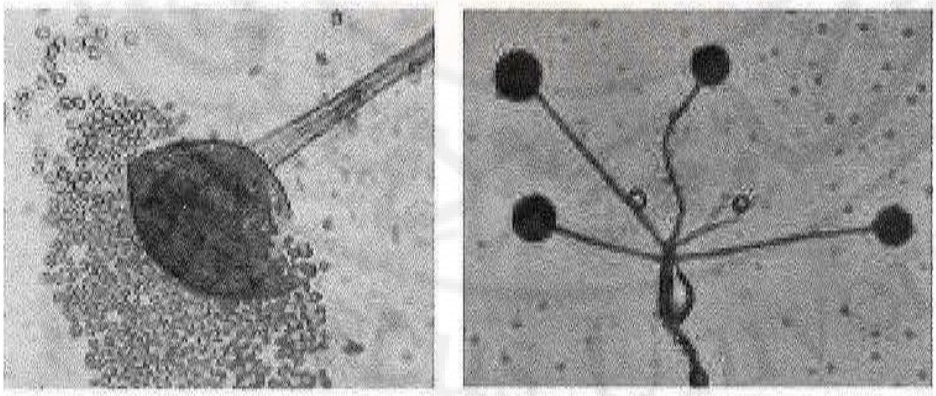
✦ الريزوبوس *Rhizopus*

أعفان واسعة الانتشار في الطبيعة، رمية، تنتشر على سطح الوسط وتتثبت عليه في نقاط مختلفة بوساطة جذيرات Rhizoids، ويصل الرئد Stolon بين كل نقطتي تثبيت (الشكل 2-10)، يمكنها التبرعم كالخمائر عند تنميتها في وسط سائل ذي محتوى سكري عالٍ، تلوث أوساط الاستزراع، وتكون مزعجة بسبب سرعة انتشار الأبواغ في المختبرات [أحمد 2004].

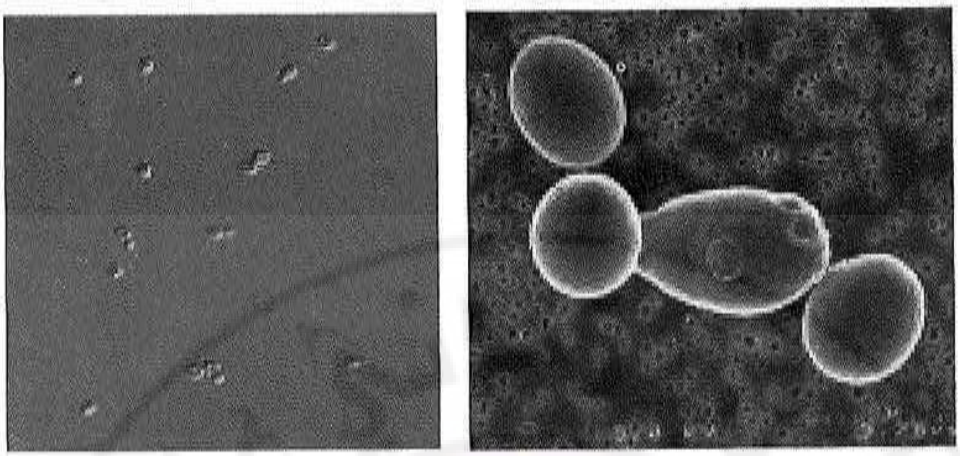
العفن *R. oryzae*	يُستعمل في اليابان وبلدان شرقي آسيا لتخمير الرز، ولإنتاج مشروب غولي يدعى ساك، وإن كان قد استُبدل أخيراً بالنوع *Aspergillus oryzae*.
أعفان النوعين *R. nodosus* *R. sinesis*	تُستعمل لإنتاج حمض الفوماريك، ويمكنها إنتاج كميات كبيرة من حمض اللبن، ولإتمام بعض الخطوات في تصنيع المادة الطبية – الكورتيزون Cortisone (الرحمة 1998).

✦ الخميرة Saccharomyces

تُستعمل أنواع هذه الخميرة في صناعة الأغذية على نطاق واسع، كما في صناعة الخبز وإنتاج المشروبات، وفي صناعة الغوليات، وكمصدر لبروتين الخلية المفردة SCP (الشكل 2-11).



الشكل 2-10 ***Rhizopus***



الشكل 2-11 *Saccharomyces*

خميرة الخبز *S. cerevisiae*	تُستعمل لإنتاج الغول الإيتيلي والجِعة على مخلفات صناعة السكر أو السكريات الأخرى بوساطة الزيماز Zymase، ولكنها لا تحلل النشاء إلى سكر، وتُستعمل لإنتاج المشروبات الغولية في شروط لاهوائية على مُلت الشعير وعصير الفواكه: كالعنب والتفاح والكرز، وتُستعمل لإنتاج الفيتامينات، مثل: B complex، والبروتين على مخلفات صناعة السكر أو النَّفط، ولإنتاج الإنفرتاز Invertase.
S. uvarum	تُستعمل لإنتاج الجِعة والمليبياز Melibiase.
S. diastaticus	تُستعمل لإنتاج الجِعة والمليبياز وGlucoamylase.

- الخميرة *Rhodotorula*

تُستعمل لإنتاج الكاروتينات Carotenes، والمواد المكوّنة للستيرويدات Steroids، والليباز Lipase.

- الخميرة *Ashbya gossypii*

تُستعمل لإنتاج الريبوفلافين Riboflavin.

تتميز الجراثيم عادة بشكل كروي، وتدعى المكورات Cocci، أو بشكل عصوي وتدعى العصيات Bacilli، أو بشكل لولبي وتدعى اللولبيات Spirals، ولكن خلايا بعض الممثلات الجرثومية توجد في تجمعات مزدوجة أو عنقودية أو عقدية (الشكل 2-12)، والخلية الجرثومية نموذج للخلايا بدائية النواة Prokaryotic cells، وتتكاثر الجراثيم بالانشطار، ونادراً ما يلاحظ حدوث التكاثر الجنسي لديها، ويتحرك بعضها بالسياط Flagella.

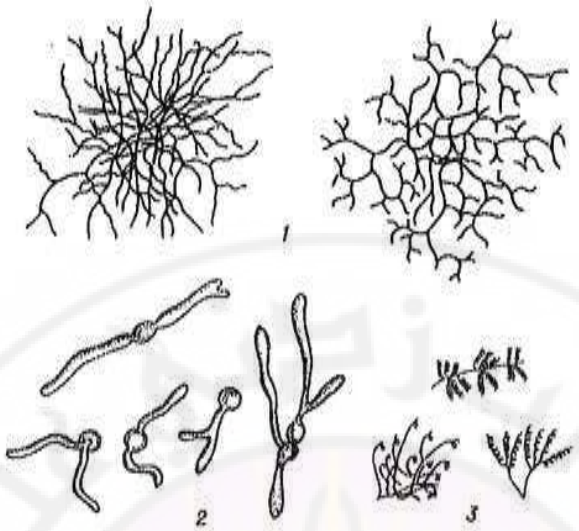
وتوجد أشكال أخرى غير نموذجية فالملويات *Spirochetes* شبيهة بالأوالي الحيوانية Protozoans، وتشبه الشعّيات Actinobacteria الأعفان، وتشبه أفراد الجنس *Beggiatoa* الطحالب (الشكل 2-13).



A. المكورات *Cocci*،
B. العصيات *Bacilli*،
C. الضمات *Vibrio*،
D. الملويات *Spirilla*.

الشكل 12.2 أشكال الجراثيم الأساسية وأنماط تجمعها.

ويمكن تشخيص الجراثيم وتحديدها فقط باستعمال المجهر، ولذلك تعامل الخلايا معاملة خاصة وتصبغ قبل دراستها، بهدف تحديد شكلها وحجمها وتجمعاتها وتركيبها وتفاعلات تلوينها، ويتم تعريف الجراثيم عادة اعتماداً على دليل برجي Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology.



1. منظر إجمالي للأفطورة. 2. إنتاش الأبواغ. 3. حاملات الأبواغ.

أشكال الشعيات Actinobacteria وبنيتها.



Beggiatoa *Spirochetes*

الشكل 2-13 بعض الأشكال الجرثومية غير النموذجية.

تحيط المحفظة Capsule أحياناً بالجدار الخلوي الجرثومي، مما يكسب الخلايا الجرثومية قدرة كبيرة على مقاومة الشروط البيئية القاسية، مثل: ارتفاع درجة الحرارة، أو انخفاضها، والمواد الكيميائية، والمحفظة طبقة لزجة متباينة الثخانة تختلف باختلاف الأنواع الجرثومية.

ويتميز بعض أجناس الجراثيم بقدرته على التبوّغ في الشروط غير الملائمة، وتكوين أبواغ داخلية Endospores، مثل: أجناس *Bacillus*، *Clostridium* وغيرها، والأبواغ أشكال مقاومة تبقى في حالة سبات Dormancy فترات طويلة، نتيجة امتصاص كبير لشوارد الكلسيوم وتركيب حمض الدي بيكولين Dipicolinic الذي تتميز به عملية التبوغ. ومن الجراثيم المهمة اقتصادياً، والمستعملة فعلاً في التطبيقات الصناعية بهذه الطريقة أو تلك، الأنماط الآتية:

- الجراثيم البروبيونية ***Propionibacteria***

تنتج هذه الجراثيم حمض البروبيونيك Propionic Acid بتخمر الغلوكوز، ويمكن عزلها من الجبن الجاف Emmetaler [أبو الدهب وآخرون 1997]، وتخمر السكريات وفق نمط تخمرات غير متجانسة حيث تنتج حموضاً أخرى إلى جانب حمض اللبن (الشكل 2-14).

- المطثية ***Clostridium***

جراثيم متبوغة لاهوائية مجبرة تنتج حمض الخل Acetic acid وحمض الزبدة Butyric Acid، وتكوّن العديد من المواد متعادلة التأثير كالأسيتون والغوليات، وتحلل البروتينات تحللاً تعفنياً Putrefaction، وتحلل البكتين، وتحلل أنواع منها السليلوز في شروط بيئية محددة (الشكل 2-15).

C. histolyticum	ينتج الكولاجناز Collagenase.
C. butyricum	يحلل النشاء.
C. acetobutylicum	ينتج الفيتامين B_2، ويكوّن غازي الهدروجين وثنائي أكسيد الكربون، وحمض الخل وآثار من حمض الزبدة والإيتانول والبوتانول ومركب الأسيتون بتخمر حمض البيروفيك بطريقة تختلف عما في حالة الخميرة، وتستعمل لإنتاج الأسيتون والبوتانول بتخمر الغلوكوز [بوستجيت 1996، أبو الدهب وآخرون 1997].

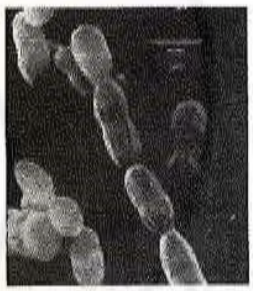
- الجراثيم الخليّة ***Acetobacter***

تخمر هذه الجراثيم الإيتانول بشدة إلى حمض الخل، وعند توافر بعض الشروط الهوائية يمكن أن تحول أنواع خليّة أخرى الخل إلى ثنائي أكسيد الكربون والماء، مثل: *A. acetigenum*، *A. xylinoides*، *A. orleanse*.

- جراثيم ***Leuconostoc***

تخمر هذه الجراثيم السكريات وفق نمط تخمرات غير متجانسة حيث تنتج حموضاً أخرى إلى جانب حمض اللبن، ويمكن أن تخمر الغلوكوز لتكوين الإيتانول (الشكل 2-16).

L. dextranicum يكوّن الغلوكوزان في وسط يحتوي السكروز (من وحدات الغلوكوز).



الشكل 2-14

الجراثيم البروبيونية

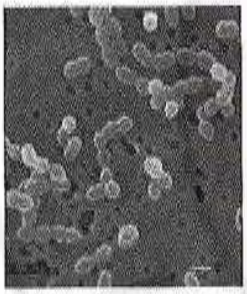
Propionibacterium



الشكل 2-15

الجراثيم المطثية

Clostridium

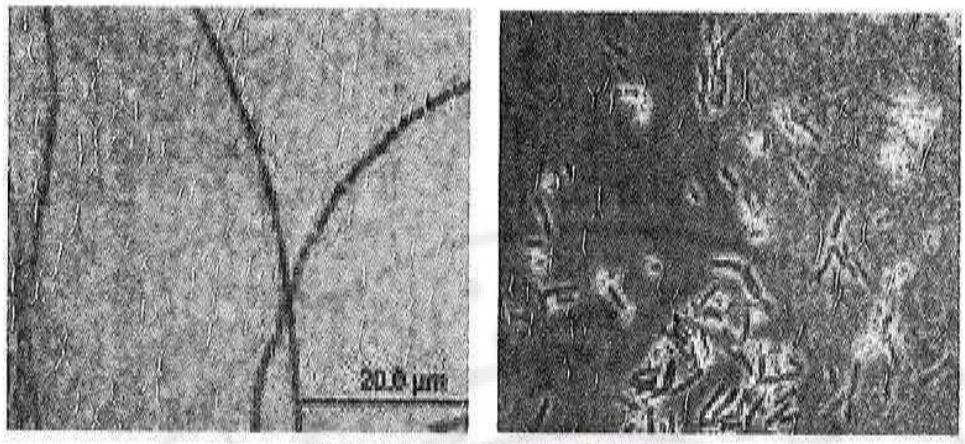


الشكل 2-16

Leuconostoc

- جراثيم ***Bacillus***

تفرز البروتياز Proteases الخارجية، وتحلل السليلوز في شروط بيئية محددة، وتحلل البكتين والنشاء، وينتج بعض أنواعها الفيتامين B_{12}، وتتمكّن سلالات منها من تغيير الخواص الكيميائية للكيروسين والغازولين والبنزين والبَرَفين، ويستعمل بعض أنواعها النّفطَ أو مشتقاته (الشكل 2-17).



الشكل 2-17 جراثيم ***Bacillus***

Bac. subtilis	ينتج البروتياز Protease والأميلاز Amylase، وقد أمكن الحصول على مستخلصات إنزيمية من خلاياها يمكن أن تساعد في تكوين الفركتوزان من السكروز، وينتج الصاد الحيوي الباسيتراسين Bacitracin.
Bac. polymyxa	ينتج الصاد الحيوي البوليمكسين Polymyxin.
Bac. mesentericus	يكون الفركتوزان من السكروز (من وحدات فركتوفورانوز)، وينتج الصادات الفاعلة تجاه الأحياء الدقيقة الأولى، وتستعمل في معالجة الجروح الخارجية بسبب سميتها، مثل: غرامسيدين، وبوليمكسين، وباسيتراسين [بوستجيت 1996].

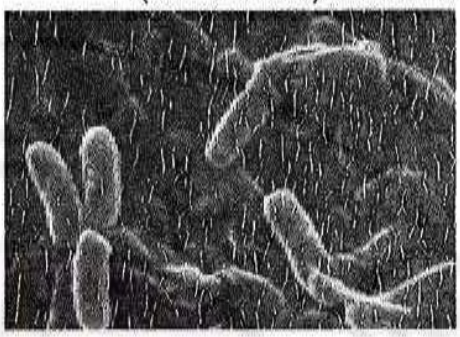
- جراثيم ***Pseudomonas***

تفرز البروتياز Proteases الخارجية، وتتمكّن سلالات منها من تغيير الخواص الكيميائية للكيروسين والغازولين والبنزين والبَرَفين، ويستعمل بعض أنواعها النّفطَ أو مشتقاته (الشكل 2-18).

P. fluorescens	تفرز الليباز Lipase المحفزة لحلمهة الشحوم إلى حموض دسمة وغليسرول، وهي ذات فاعلية عالية جداً.

- جراثيم ***Lactobacillus***

تخمر السكريات إلى حمض اللبن، وفق نمط تخمرات متجانسة بفعل الألدولاز Aldolase (الشكل 2-19).



الشكل 2-18 جراثيم ***Pseudomonas***



الشكل 2-19 جراثيم ***Lactobacillus***

- جراثيم ***Streptococcus***

تخمر السكريات إلى حمض اللبن، وفق نمط تخمرات متجانسة بفعل الألدولاز Aldolase (الشكل 2-20).

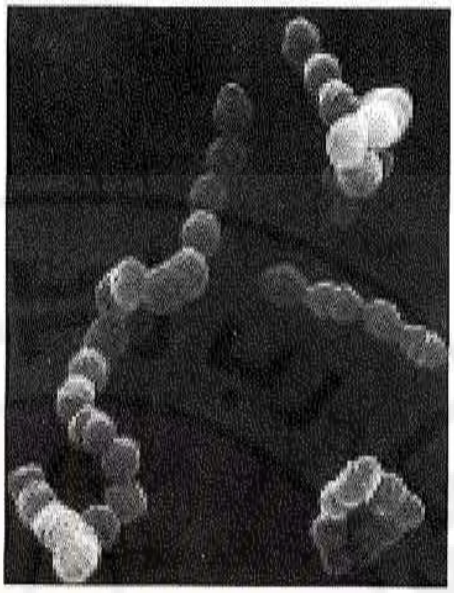
- جراثيم ***Proteus***

تحلل البروتينات تحللاً تعفنياً **Putrefaction**.

- جراثيم ***Streptomyces***

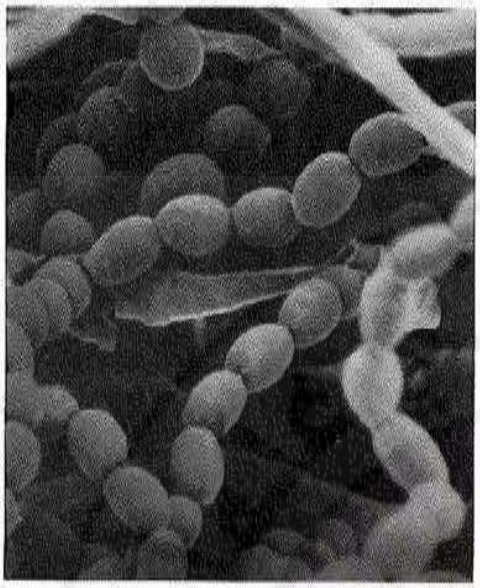
ينتج بعض انواعها الفيتامين B_{12}، وكثير من سلالاتها منتج للصادات الحيوية (الشكل 2-21).

S. venezuelae	ينتج الصاد الحيوي الكلورامفنيكول Chloramphenicol.
S. hemolyticus	ينتج الصادتين الحيويتين Streptokinase و Streptoodornase.



الشكل 2-20 ***Streptococcus***

صورة بالمجهر الإلكتروني 33.000 ×



الشكل 2-21 ***Streptomyces***

- جراثيم ***Actinomyces***

يستعمل بعض أنواعها النَّفطَ أو مشتقاته.

- إنتاج بروتين الخلية المفردة **Single Cell Protein SCP**

يخمّر بعض أنواع الجراثيم الهدروكربونات: كالبرفين والميتان، والأغوال: كالإيتانول والميتانول، وينتج كميات كبيرة من البروتين ذي القيمة الغذائية العالية، حيث يحتوي البروتين الجرثومي كمية من الدهون والسكريات والماء وعناصر لاعضوية كالفوسفور والبوتاسيوم وغيرها.

ويمكن استعمال هذه البروتينات المصنعة بهذا الأسلوب في أغذية الإنسان وعلف الحيوانات، وإن كان ذلك يمكن أن يتعلق بإنتاج النباتات المحورة وراثياً في عهد التقانات الحيوية.

230 الطحالب Algae

تنتشر الطحالب في معظم البيئات: كالمياه العذبة، والبحار، والتربة، وعلى الصخور الرطبة، وجذوع الأشجار، وهي أحياء حرّة عادة، ويدخل بعضها في علاقات تعايش ومُساكنة مع الأحياء الأخرى، وغالبيتها خلايا أو مستعمرات صغيرة، ولا توجد فيها نسج حقيقية إطلاقاً، إلا أن ما يشبه الجذور والسوق والأوراق يظهر في بعض أنواع الطحالب السمراء والحمراء والكارية.

وتستأثر الطحالب بأهمية بيئية واقتصادية كبيرة؛ لأن خلاياها الفردية كائنات كاملة قادرة على القيام بالتركيب الضوئي Photosynthesis، وتكوين عدد كبير من المركبات الخلوية، ويوجد منها نحو 25 ألف نوع.

يفيد في تصنيف الطحالب عادة أشكال الخلايا، والبنيات التكاثرية، ودورات الحياة، وطبيعة المركبات الخلوية التي تنتجها الخلية وتخزنها داخلها بأشكال مختلفة، وطبيعة الصباغ كاليخضور والكاروتينويدات Carotenoids (الكاروتينات Carotene والزانتوفيلات Xanthophylls) والبروتينات الصفراوية Phycobilin.

تكون الطحالب الخضراء Green Algae وحيدة الخلية أو عديدة الخلايا توجد في مستعمرات، وهي شبيهة بالنباتات الراقية من حيث وجود اليخضور والسليلوز واختزان النشاء، ينتمي إليها 5700 نوع، وتنتشر غالبيتها (نحو 90%) في المياه العذبة والباقي في البحار، وموادها الادخارية:

النشاء؛ والزيوت.

وينتمي 250 نوعاً إلى الطحالب الكارية Stoneworts، وموادها الادخارية: النشاء، أما الطحالب الصفراء المخضرة Yellow Green Algae فينتمي إليها 375 نوعاً، وهي أشكال برية، وتنمو في التربة الرطبة، وضفاف الجداول الموحلة الجافة، والمستنقعات، والأنهار، وموادها الادخارية:

الزيوت؛ والكريزولامينارين Chrysolaminarin.

وتنتشر المشطورات Diatoms في كل مكان، وهي وحيدة خلية توجد فرادى أو في مستعمرات مختلفة الأنماط والعدد، وتتمعدن بالسيليس، وموادها الادخارية: الكريزولامينارين Chrysolaminarin، والزيوت، وينتمي إليها 5500 نوع.

تكون الطحالب السمراء Brown Algae بحْرية، وموادها الادخارية: اللامينارين Laminarin، والمانيتول، والزيوت، وينتمي إليها 1000 نوع.

وتكون الطحالب الحمراء Red Algae غير متحركة، وموادها الادخارية: النشاء الفلوريدي Floridean، والزيوت، وينتمي إليها 2500 نوع، وغالبيتها العظمى بحرية، وتتميز ممثلات المجموعتين الأخيرتين بضخامتها وإمكان رؤيتها عياناً غالباً.

وتتحرك الطحالب اليوغلينية Euglenoids وحيدة الخلية بالسياط، وهي ملونة أو غير ملونة، غزيرة في البرك والمستنقعات المؤقتة ذات المحتوى العضوي المرتفع، وغالبيتها في المياه العذبة، ولكنها شائعة في مصبات الأنهار.

وتنتشر الطحالب الذهبية Golden Algae عادة في المياه العذبة، وهي ثنائية السياط غالباً، ونادراً وحيدة السوط، وتتمعدن بالسيليس أو الكلس، ويحمل بعض أجناسها حراشف ذات طبيعة كلسية معقدة الشكل، وموادها الادخارية: الكريزولامينارين Chrysolaminarin.

وتكون أفراد الطحالب الكريتية Cryptophyceae وحيدة خلية ثنائية السياط، والخلايا ذات تركيب ظهري بطني، إلا أنها تكون مسطحة في القطاع العرضي.

وتتحرك أفراد الطحالب النارية Pyrrophyceae بالسياط، ويخرج من قمة الخلية سوطان متباينان في عدد من الأجناس، وتساعد امتدادات الغمد الشبيهة بالأجنحة على الطفو في بعضها الآخر، ونوياتها كبيرة، وهي واسعة الانتشار في البحار، ومصبات الأنهار، والمياه العذبة، وموادها الادخارية: النشاء.

240 احتياجات نموّ الأحياء الدقيقة

Requirements of Microbial Growth

تتباين قدرة الأحياء الدقيقة على استعمال الطّاقة والتركيب، وهناك تنوّع واسع للمركّبات التي تستعملها، ويمكن تقسيم هذه الأحياء، وفق الآتي:

(1) **ذاتيّات التغذية** Autotrophs: تستعمل غالباً CO_2 مصدراً وحيداً للكربون في التركيب والبناء، إلى جانب الماء والأملاح اللاعضويّة، وتستمدّ طاقتها من الضوء أو من أكسدة مركّب أو أكثر من المواد اللاعضويّة، وتدعى معدنيّة التغذية Lithotrophic التي تكوّن المادّة العضويّة من مصادر لاعضويّة، وتكون ضوئيّة Photolithotrophic، مثل: الطحالب والجراثيم الزرقاء، أو كيميائية Chemoautolithotrophic، مثل:

- جراثيم الهدروجين *Hydrogenomonas*
- وجراثيم الكبريت والحديد *Desulfovobrio*
- وجراثيم النترجة: *Nitrosomonas*، *Nitrobacter*.

(2) **غيريّات التغذية** Heterotrophs: تستعمل الكربون في صيغة مركّبات عضويّة، وتتطلّب غالبيّتها جزيئات عضويّة معقّدة، مثل: الغلوكوز مانحاً للإلكترونات، وتدعى لذلك عضويّة التغذية Organotrophic، ويفيد جزء من المركّب العضويّ المستعمل مصدراً للطاقة في تركيب عدد من المركّبات العضويّة الخلويّة أو جميعها، وتكون ضوئيّة Photoheteroorganotrophic، مثل: جراثيم *Rhodomicrobum* الأرجوانيّة و*Chloroflexus* الخضراء، وكيميائيّة Chemoheteroorganotrophic، مثل: غالبيّة الجراثيم والفطريات.

(3) **مختلطة التغذية** Myxotrophs: تكون قادرة على تغيير أسلوب التغذية وفقاً للظروف البيئيّة، مثل: نموّ ذاتيّات التغذية الضوئية في الظلام، وقابليّة بعض الأنواع لاستعمال مواد عضوية أو لاعضوية.

وتتفرّد الجراثيم بالتغذية المعدنيّة Lithtrophy، وتكون التغذية الغيريّة الضوئيّة Photoheterotrophy مشتركة بين الجراثيم الأرجوانيّة والخضراء، وتظهر في مجموعة صغيرة من الطحالب الحقيقيّة النواة، والتغذية الضوئيّة Phototrophy غير موجودة في البدائيّات، وفي التغذية الأكسينيّة Auxotrophy تتطلّب سلالات معيّنة عامل نموّ لا تتطلّبه الأنماط البريّة الأبويّة، مثل: احتياج سلالة من جراثيم *E. coli* للحمض الأمينيّ التربتوفان Tryptophan.

عندما تنمو الأحياء الدقيقة في وسط صنعي ملائم يتكوّن عدد كبير من الخلايا نتيجة انقسامها وتكاثرها خلال فترة وجيزة (24 ساعة مثلاً)، بينما تتطلّب أنواع أخرى وقتاً أطول، ويدلّ النمو Growth في الميكروبيولوجيا على الزيادة في الكتلة الخلوية Cell mass للخلية الوحيدة أو لمجاميع الخلايا.

ويمثّل نموّ خلايا الأحياء الدقيقة وتكاثرها عملية دورية، فالخلايا الناتجة عن الانقسام تمتلك الخصائص الحيوية التي تميّزت بها أسلافها، ويمكن الاستفادة من قدرة الخلايا على الانقسام في الحكم على حيويتها، ففي الواقع يتميّز بعض الخلايا غير الحية بنشاط استقلابي معيّن بينما تكون الخلايا غير قادرة على التكاثر نظراً إلى أن النظام الوراثي هو الذي يتحكّم في كيفية تركيب المواد البنائية في الخلايا وفي درجة انقسامها.

241 العناصر الغذائية Nutritional Elements

تحتاج الأحياء الدقيقة، من أجل نموها في الأوساط المختلفة، مجموعة من المواد الغذائية التي تفيد في توليد الطاقة وبناء المادة الحية في الخلية، وتتكون هذه المادة من عناصر الكربون والهدروجين والأكسجين والنتروجين والفُسْفور والكبريت؛ إضافة إلى بعض العناصر الأخرى التي توجد بكميات زهيدة جداً، وهكذا فالوسط الذي تعيش فيه الأحياء الدقيقة يجب أن يؤمّن لها هذه العناصر جميعها في صورة متيسرة؛ ولذلك يجب أن تتصف هذه العناصر بالآتي:

(1) أن تكون العناصر الغذائية قابلة للعبور خلال الغشاء السيتوبلاسمي بطريقة الانتشار Diffusion أو الانتقال Transport، أو أن تتحلل بالإنزيمات الخارجية Extracellular Enzymes إلى شكل أبسط يمكنه الدخول إلى الخلية.

(2) أن تتمكّن الخلية بوساطة الجهاز الإنزيمي من دمج المادة الغذائية ضمن المادة الحية دون أن تُحْدث أيّ تغيير، أو أن يُهاجم هذا الجهاز المادة الداخلة ويحرر الطاقة، أو أن يحوّلها بصورة كيميائية إلى جزيئات أكثر صلاحية لتكوين المادة الحية من جزيئات المادة ذاتها، وتختلف الاحتياجات الغذائية للأحياء الدقيقة نظراً إلى تباين مقدرتها على استعمال المواد المختلفة وتركيبها، واختلاف عوامل نموها.

242 الظروف الفيزيائية Physical Conditions

☼ **التهوية** Aeration عامل من العوامل المهمة لنمو الأحياء الدقيقة وتكاثرها، وتكون الجراثيم:

هوائية مجبرة Strict Aerobic	*Bacillus thermoliquefaciens*
لاهوائية مجبرة Strict Anaerobic	*Clostridium acetobutylicum*
أليفة قلة الأكسجين Microaerophilic	*Lactobacillus plantarum*
مخيّرة Facultative	*Streptococcus cremoris*
بحاجة إلى خليط من الأكسجين ونسبة من ثنائي أكسيد الكربون	*Neiseria gonoehoeae*
متحمّلة للظروف الهوائية Aerotolerant	بعض أنواع *Clostridium*

☼ تكون قيم **الرقم الهدروجيني** pH الفضلى نحو 7، بينما يكون الحد الأقصى لنمو غالبية الجراثيم 4 أو 9، وإن كان بعضها ينمو في بيئات متطرفة.

☼ تنمو الأحياء الدقيقة ولاسيما الجراثيم في **درجة حرارة** Temperature بين 0 – 75 س° (درجة سلسيوس Celsius degree)، ولكل نوع مجال حراري ينتشر فيه، وتقع درجة الحرارة الفضلى للنمو بين 20 – 40 س°، وليس من الضروري أن تتطابق هذه ودرجة الحرارة الفضلى للفعالية الإنزيمية الخلوية، وتكون الجراثيم:

أليفة للحرّ Thermophilic،

أو أليفة القرّ Psychrotrophic،

أو أليفة للاعتدال Mesophilic،

أو متحملة لدرجة من الحرارة أو البرودة.

☼ يتطلّب نمو بعض الجراثيم (والعوالق النباتية والطحالب) وجود **الضوء**، مثل:

الجراثيم الكبريتية الخضراء Green Sulfur Bacteria ذاتية التغذية؛

الجراثيم الأرجوانية اللاكبريتية Purple Non-sulfur Bacteria غيرية التغذية.

☼ وكثيراً ما يحتاج بعض الأحياء الدقيقة إلى مواد عضوية معقدة تدعى **عوامل النموّ Growth factors** تجب إضافتها إلى وسط النمو، حيث تفيد في العمليات الإنزيمية أو تقوم بدور السّلَف Precursor في تكوين مادة عضوية خلوية، مثل:

الفيتامينات	كالفيتامين B_{12}.
الحموض الأمينية	كالبيوتين أو أكثر من حمض أميني.
الأسس البيورينية أو البريميدينية.	

ويؤدي نمو الخلايا إلى استهلاك المكوّنات الغذائية وطرح منتَجات الاستقلاب والفعالية الحيوية في الوسط المحيط؛ الأمر الذي يزيد تركيز المخلفات من المركبات السامة والمثبّطة Toxic and Static Substances، إلى جانب انخفاض تركيز المواد المغذية، وبالنتيجة يمكن أن ينفد مصدر الطاقة أو أي عنصر من العناصر الضرورية للنمو، وهو ما ينعكس في إعاقة النمو وتوقّفه وربما الموت.

250 منحنى النمو Growth Curve

من المعروف جيداً أن الجراثيم ذات نمو سريع Rapid Growth، حيث تستغرق دورة خلية *E. coli* نحو 60 دقيقة على الأقل، بينما يمكن أن تنمو خلايا هذه الجراثيم وتتضاعف خلال 20 دقيقة تقريباً في الشروط المناسبة، وقد تتضاعف المادة النووية دون حصول الانقسام وعندئذ تبدو الخلية ذات نواتين أو أكثر، ولما كانت سرعة النموّ تمثّل زيادة تركيز الكتلة الحيوية في وحدة الزمن فإن جماعات الخلايا تظهر في عدد من الأطوار بعد تلقيح الوسط الطازج، ويمكن استعمال الإشارة (+) لوصف زيادة التركيز والنمو الإيجابي، والإشارة (−) لوصف انخفاض التركيز وانخفاض عدد أفراد المستعمرة أو موتها.

251 زمن الجيل Generation Time

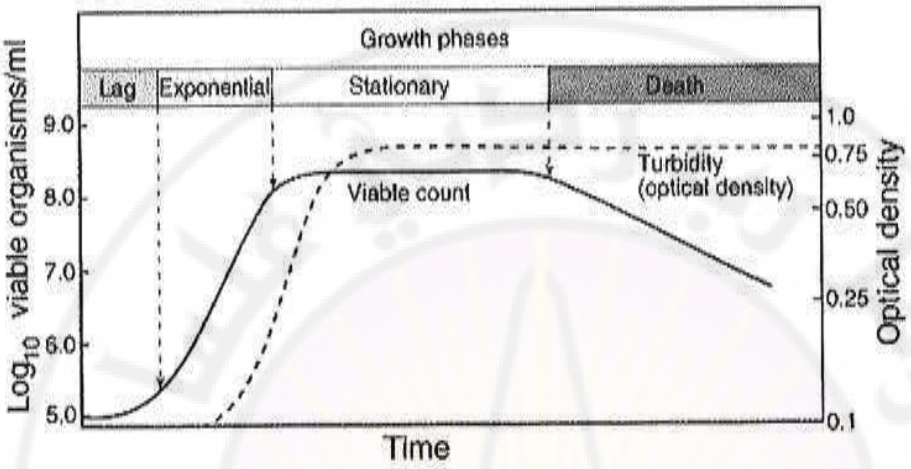
يمكن تعريف اصطلاح زمن الجيل Generation time G بأنه الوقت بين تكوين الخلية وانقسامها، ويرتبط بعوامل مختلفة، مثل: نوع المزرعة وعمرها، وتركيب الوسط الغذائي ونوعه، ودرجة الحرارة، ويتفاوت زمن الجيل عموماً في الجراثيم بين 20 دقيقة وعدة ساعات أو أكثر في الظروف الفضلى، فهو مثلاً:

الزمن، دقيقة	الجراثيم	على الوسط الغذائي
17	*E. coli*	Glucose-salts
25	*Bacillus megaterium*	Sucrose-salts
48	*Streptococcus lactis*	Lactose broth
87 – 66	*Lactobacillus acidophilus*	Milk
461 – 344	*Rhizobium japanicum*	Mannitol-salts-yeast extract

ونظراً إلى أن تكاثر الأحياء الدقيقة يحدث بوساطة الانقسام المباشر أو بالبرعمة فإنه يتضاعف عدد الخلايا في كل جيل.

252 أطوار النموّ Growth Phases

يوضح الشكل 2-22 منحنى النمو العام لكائن حي مجهري وحيد الخلية ينمو في وسط ملائم، وهو يمثل تغيرات لوغاريتم الوزن الجاف.



الركود Lag، الأسي Exponential، الثبات Stationary، الموت Death، العدد القابل للحياة Viable Count، العكارة Turbidity، الأحياء الدقيقة الفعالة Viable Microorganisms، الكثافة الضوئية Optical Density.

الشكل 2-22 منحنى نمو الأحياء الدقيقة

(1) طور الركود Lag Phase هو غياب الانقسام في إثر تلقيح الوسط المغذي بالأحياء الدقيقة، ثم بدء الانقسام وزيادة Accelerated أعداد الخلايا تدريجياً.

(2) طور النموّ الأسّي Exponential Growth Phase، وهو طور الانفجار Log Phase أو طور النمو اللوغاريتمي Logarithmic، وفيه تكون سرعة الانقسام الخلوي ثابتة، ويكون عدد الخلايا الناتجة > عدد الخلايا الميتة.

(3) طور الثبات Stationary Phase، حيث يتباطأ معدل الانقسام والتكاثر، ويزداد زمن الجيل، ويتوازن عدد الخلايا المنقسمة وعدد الخلايا الميتة.

(4) طور الموت Death Phase، حيث يحدث اختلال التوازن نتيجة ازدياد أعداد الخلايا الميتة على أعداد الخلايا المنقسمة، وهو في الواقع طور التراجع والانحطاط Decline Phase.

ملاحظة:

يرتبط زمن الجيل بطبيعة اللُّقح Inoculum، فعند استعمال اللقاح من مزرعة فتية في وسط النمو ذاته يكون طور الركود قصيراً.

253 تركيز الخلايا Cell Concentration

يمثّل تركيز الخلايا نسبة الكتلة الخلوية إلى حجمها، ويقدر بالغرام في اللتر، أو المليغرام في اللتر، وإن كانت تُحدّد كثافة المزرعة الجرثومية بعدد الخلايا في وحدة الحجم (وأحياناً الموجودة في وحدة السطح).

260 القياس الكمّي للنموّ

Quantitative Measurement of Growth

هناك طرائق عديدة للتقدير الكمّي لنموّ الأحياء الدقيقة تعتمد على طبيعة عمليات النموّ، وفق الآتي:

261 عدد الخلايا Cell Count

يمكن تقدير عدد الخلايا للأحياء الدقيقة إما بطريقة مباشرة باستعمال المجهر في لطخات مثبّتة وملوّنة للجراثيم، وإما على نحو غير مباشر بإجراء عد المستعمرات Colony Count أو بطريقة العدّ بالأطباق Plate Count.

262 الكتلة الحيوية Biomass

يمكن تقدير الكتلة الحيوية إما بطريقة مباشرة بقياس الوزن الرطب أو الوزن الجاف، أو عن طريق تقدير كمية النتروجين الخلوي، وإما بطريقة غير مباشرة بتقدير درجة التعكير Turbidimetric في الوسط – ولاسيما لوحيدات الخلية حيث تكون الكثافة الضوئية دالة على حجم الخلايا النامية وعددها، ويمكن أن تنسب إلى الوزن الجاف.

263 الفاعلية الحيوية Bioactivity

يمكن تقدير الفاعلية الحيوية؛ وبالتالي النموّ بطريقة غير مباشرة؛ إذ إنّ استعمال مادة غذائية معينة أو تكوّن مادة كيميائية معيّنة أو فاعلية إنزيم معيّن يرتبط ارتباطاً وثيقاً بكمية النمو المراد قياسه في زمن محدّد؛ وبالتالي يمكن الاعتماد على قياس مركّب كيميائي أو مركّب ناتج في تحقيق هذا الغرض.

270 منتّجات العمليات الصناعية Industrial Processes Products

يمكن تقسيم المركبات الكيميائية التي تنتجها الأحياء الدقيقة في أنشطتها الحياتية والمهمة في التطبيقات الصناعية، وفقاً لطبيعة هذه المركبات وأهميتها للخلية، إلى:

☼ جزيئات كبيرة Macromolecules، كالإنزيمات وعديدات السكّر ذات كتلة جزيئية 10 آلاف – بضعة ملايين دالتون؛

☼ مستقلّبات أوليّة، ومستقلّبات ثانوية تتميز بكتلة جزيئية منخفضة جداً مقارنة بالإنزيمات، فهي تقلّ عن 1.5 ألف دالتون، وتُظهر هذه المواد فاعلية حيوية بطرائق مختلفة، فهي تلبي احتياجات الإنسان والحيوانات للمواد الفاعلة حيوياً، وتتآثر Interact مع الأحياء الدقيقة والحشرات والنباتات، وتشارك في تفكيك الرُّكازات Substrates العضوية المختلفة، ويدخل بعض الحموض الأمينية كمادة أولية في التحولات الكيميائية (Arkaldeva *et al.* 1989).

والإنزيمات Enzymes جزيئات كبيرة تتميز بكتلة جزيئية عالية تتراوح بين عشر آلاف وبضعة ملايين، مثل:

- Taq polymerase: يستعمل في سلسلة الدنا PCR وتفاعلات أخرى.
- Cellulase: تنتجه جراثيم *E. coli* ويفكك السليلوز وعديدات السكر في الخلايا النباتية.
- Hydrolases: أكثر من 75% منها من الإنزيمات الصناعية.

- Protease subtilisin: تنتجه *Bacillus subtilis* المفيد في المنظفات لمعالجة اللطخات البروتينية.
- الأميلاز Amylases، الليباز Lipases، البكتيناز Pectinases، اللاكتاز Lactases، الفُسفاتاز القِلوي Alkaline phosphatase، الغلوكوز أكسيداز Glucose oxidase، البروتياز القِلوي Alkaline proteases.

271 إنتاج الكتلة الحيوية Biomass Production

تمثّل الكتلة الحيوية خلايا الأحياء الدقيقة كالجراثيم والفطريات والطحالب الغنية بالبروتين، مثل: إنتاج خميرة الخبز Baker's yeast، وبروتين الخلية المفردة Single Cell Protein SCP، أو إنتاج الهرمونات والمحفزات النباتية، أو إنتاج المركبات الكيميائية المفيدة كالفيتامينات والشحوم والصباغ Pigments، وهذه الأخيرة تُستعمل كمُضافات غذائية، أو إنتاج الأسمدة الحيوية Biofertilizers (مثبّتات النتروجين الجوي التعايشية وحُرّة العيش، ومذيبات الفُسفات اللاتعايشية)، أو المساهمة في المكافحة الحيوية ومعالجة تلوث المياه.

تمتلك الأحياء الدقيقة قدرة مذهلة على استعمال مصادر رخيصة من المخلفات المكونة من الكربون والنتروجين لكي تفرط في إنتاج مواد استقلابية مفيدة ذات وزن جزيئي منخفض أو أخرى ذات كتلة جزيئية مرتفعة.

والإفراط في الإنتاج Over Production هو تجمع المادة الاستقلابية داخل الخلية أو خارجها إلى المستوى الذي يزيد على الأقل مرة واحدة على مقدار التركيز العادي (قائم على أساس الحجم الكلي لوسط التخمر) الذي تتطلبه الأحياء الدقيقة صعبة الإرضاء Fastidious من أجل نموها الأمثل.

أما منتجات التأشيب Recombinant Products فتتضمن: الإنسولين، والستربتوكيناز، والإنترفيرونات، والإنترلوكينات Interleukins، وهرمونات النمو، واللقاحات Vaccines.

272 المستقلبات الأوليّة Primary Metabolites

منشآت ضرورية لنمو الأحياء الدقيقة، ولها دور واضح في استقلاب الخلية، تتكوّن في الطور الأسّي Exponential Phase، مثل:

- الإنزيمات: مجموعة واسعة من الإنزيمات التكوينية.
- الحموض العضوية: الخل والستريك واللاكتيك والمالئيك والفوماريك والغلوتاميك.
- الحموض الأمينية: الغلوتاميك والليسين والفينيل ألانين والأسبرتيك..
- الأغوال: الإيتانول والبوتان ديول Butanediol..
- الفيتامينات Vitamins: الفيتامين B_2، الفيتامين B_{12}.
- النُكليوتيدات Nucleotides (البورينات Purines والبريميدينات Pyrimidines)،

273 المستقلبات الثانويّة Secondary Metabolites

المستقلبات الثانوية (وتسمى أحياناً Idiolits) هي مركبات ذات وزن جزيئي منخفض يمكن الاستغناء عنها عند نمو المزارع النقية، تتكوّن في طور الثبات عندما يكون النمو في أدنى حالاته، وتتعلّق بظروف النمو، فتشارك في التحولات الغذائية، وتُنتج عادة من المستقلبات الأولية أو الانتقالية وليس من الرُكازة Substrate، وتتكوّن في أنواع قليلة جداً من الأحياء الدقيقة، كالجراثيم الخيطية والمتبوّغة، والفطريات، ولمعظمها نشاط حيوي، مثل:

- الصادات الحيوية Antibiotics: البنسلين والستربتوميسين والإريثروميسين.
- الجبرلينات Giggerellins.
- الهرمونات Hormones.
- الصباغ Pigments.
- الألكالويدات Alkaloids.
- الذيفانات Toxins.
- الستيرويدات Steroides.

ولكن الحدود الفاصلة بين المستقلبات الأولية والثانوية غير دقيقة، وإن كان غير معروف بدقة لمَ تلجأ هذه الأحياء إلى إنتاج بعضها؟!.

تُنتج الخلايا عادة خليطاً من المستقلبات الثانوية تختلف بُناها بوضوح باختلاف الجهاز الوراثي والظروف البيئية، لأن الإنزيمات الفعالة تكون غير نوعية جداً، وتتكوّن المستقلبات الثانوية عادة في معدلات النمو المنخفض للأحياء الدقيقة المنتِجة، وتكون مسالك التركيب الحيوي الفردية موضوعاً لآلية تنظيم عامة، مثل: التحريض والهدم وارتباط المردود مع المنتَج النهائي.

يمكن تقسيم تنظيم الاستقلاب الثانوي إلى ثلاثة مستويات:

التنظيم بوساطة المستقلبات الأولية أو الثانوية التي تؤدي وظيفة الأسلاف والمحرّضات وإشارات التنظيم.

التنظيم بوساطة العوامل البيئية، أي تركيب الوسط – مصادر الكربون والنتروجين والفسفات والشوارد المعدنية والأكسجين.

التنظيم على مستوى مسالك الاستقلاب الثانوي، مثل: تنظيم المردود، وتكوين التنظيم الذاتي والركازات ذاتية السمية.

274 مراحل تركيب المستقلبات

Stages of Metabolites Synthesis

يُمكن تقسيم عملية تركيب الأحياء الدقيقة للمستقلبات الأولية والثانوية إلى مراحل مختلفة [Arkaldeva *et al.* 1989]، وفق الآتي:

(1) امتصاص المغذيات، مثل: مصادر الكربون والنتروجين والعناصر النادرة وغيرها.

(2) عبور العناصر الممتصة بفعل الإنزيمات في سلسلة من التفاعلات التي تؤدي إلى تنظيم تركيب مادة معينة أو أسلافها Precursors.

(3) تشكل المواد الانتقالية مواد صناعية معينة، أو أسلافاً لمستقلبات أخرى تكون في دورها مواد صناعية معينة أو مركبات انتقالية، ويتحكّم في تحقيق ذلك

تنظيم ذاتي يهدف قبل كل شيء إلى تأمين احتياجات الخلية من المواد اللازمة للنمو والبقاء ثم إلى الاحتياجات اللاحقة.

(4) عبور المادة الناتجة إلى وسط الاستزراع، وهي تخضع لخواص النفاذية الخلوية، دون أن تتمكّن الإنزيمات الخلوية من التأثير فيها.

275 منتجات التحوير الوراثي Transgenic Products

نجحت تقانات التحوير الوراثي في تغيير المسار الحيوي لبعض الأحياء الدقيقة وتوجيه الدنا لتحسين إنتاج مواد حيوية مهمة اقتصادياً بكميات ملموسة، وفي الدرجة الأولى إنتاج جراثيم *E. coli* والخميرة للإنسولين Insulin، وإنتاج الخميرة والأسبرجلوس *Aspergillus* لإنزيم تجبّن اللبن Milk-clotting Enzyme (Renin)، وإنتاج *E. coli* والخميرة للإنترفيرون Interferon، وإنتاج إنزيم Superoxide dismutase SOD بوساطة الخميرة المستعملة في منع تلف النسج لمرضى النوبة الصدرية، وإنتاج إنزيم Streptokinase المحل للخثرة الدموية بوساطة خميرة *Pichia pastoris* (طه وجمال 2005 ص24).

ملاحظات

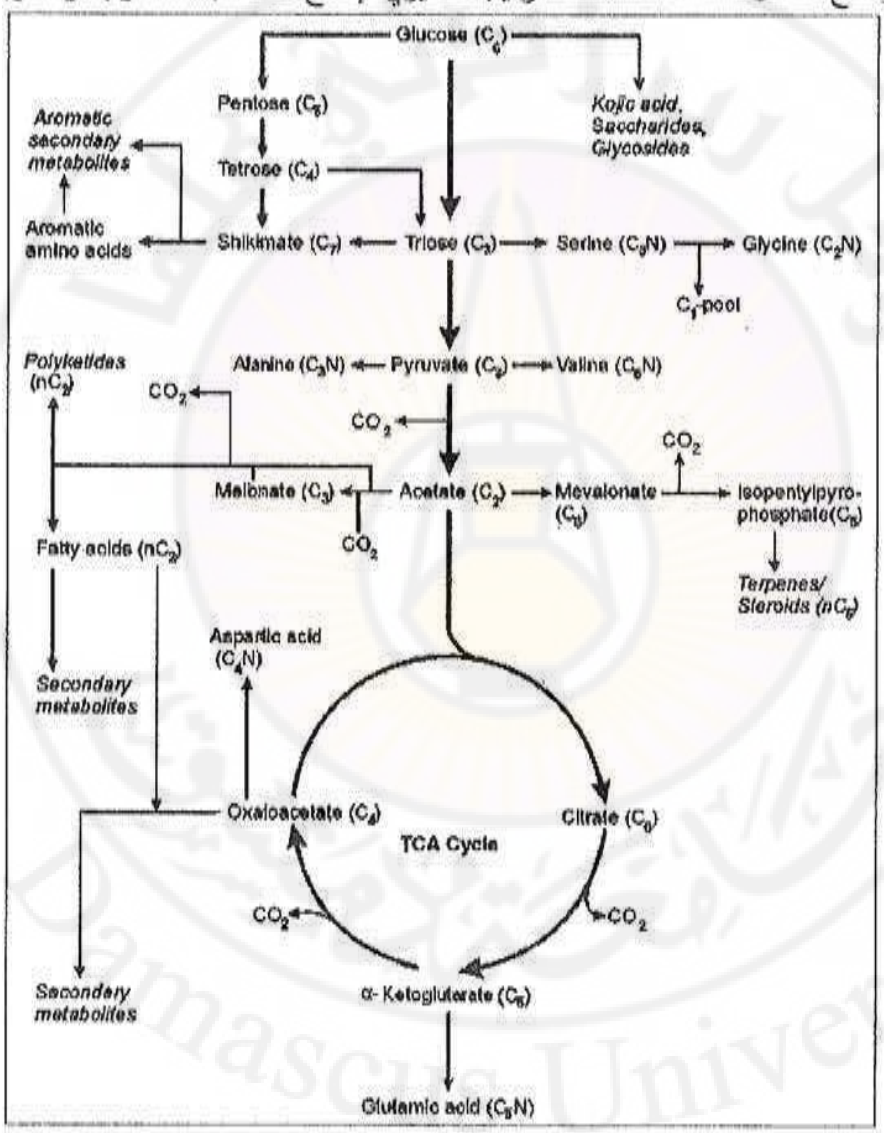
(1) تفرز الأحياء الدقيقة الصناعية المركب الكيميائي في الوسط الغذائي، الأمر الذي يؤدي إلى تجمّعه في هذا الوسط بكمية اقتصادية تسمح بإنتاجه صناعياً، ويجب ألا يكون في الإمكان إنتاجه بطريقة كيميائية أو أن إنتاجه محدود بأية طريقة أخرى.

(2) لا تتمتع السلالات الطبيعية عادة بقدرة على الإفراز والتجميع في الوسط المحيط، فهي لا تنتج كمية كافية من المركب المهم في الصناعة لتأمين كلفتها المنخفضة جداً، وحجم الصناعة الضروري للاستعمال في المجالات المختلفة.

(3) تكون السلالات الطبيعية للفطريات Deuteromycetes الناقصة والشعّيات Actinobacteria والعصيات Bacilli قادرة على إفراز كميات صغيرة من الصادات والذيفانات أو الإنزيمات المحلمهة في البيئة.

(4) عموماً، لا تفرز الأحياء الدقيقة مستقلبات أولية بكميات ملموسة، وتسعى إلى تركيبها أساساً لتأمين الاحتياجات الخلوية، ولكنّ السلالات الطبيعية للمفطورات المنتجة للغلوتاماتGlutamate Producing Corynebacteria تكون قادرة على إفراز حمض الغلوتاميك.

ويوضح الشكل 2-23 مسالك التركيب الحيوي لإنتاج المستقلبات الأولية والثانوية.



الشكل 2-23 مسالك التركيب الحيوي لإنتاج المستقلبات الأولية والثانوية.

أسئلة للمناقشة



- ما أهم الصفات الواجب توافرها في الأحياء الدقيقة الصناعية؟.
- عدد نماذج متباينة من الأحياء الدقيقة الصناعية، وما مجالها التطبيقي؟.
- قارن بالأهمية الصناعية بين نوعين من الأسبرجلوس والبنسليوم كليهما.
- اذكر الخصائص الصناعية لنوعين من أنواع جراثيم الباسيلوس.
- ما عوامل النمو؟، وما زمن الجيل؟، مع ذكر مثالين لكل منهما؟.
- عدد طرائق التقدير الكمي للنمو، وأوضح إحداها مع ذكر أهميتها.
- أوضح المستقلبات الأولية والثانوية مع ذكر الأمثلة الموافقة؟.

المراجع References

- **أبو الدهب، مصطفى كمال – الكشير، حسين محمد – القزاز، سيد أحمد – شعيب، عالية عبد الباقي (1997).** علم البكتيرات، الجزء الأول، دار المعارف، القاهرة، مصر.
- **أحمد، عبد المنعم (2004).** الفطريات، الجزء النظري، منشورات جامعة حلب، كلية العلوم، مديرية الكتب والمطبوعات.
- **أحمد، محمد علي – النواوي، محمد عبد الرزاق (1999).** الفطريات الصناعية. الدار العربية للنشر والتوزيع، مدينة نصر.
- **الأشقر، كمال (2009).** الفطريات، الجزء النظري، منشورات جامعة دمشق، كلية العلوم، مديرية الكتب والمطبوعات.
- **الرحمة، عبد الله بن ناصر (1998).** أساسيات علم الفطريات، الطبعة الثالثة، منشورات جامعة الملك سعود، النشر العلمي، الرياض، المملكة العربية السعودية.

- **ساجدي، عادل جورج – محمد علي، علاء يحيى (1987).** الميكروبيولوجيا الصناعية، الجزء الأول، أساسيات التخمرات الصناعية، جامعة البصرة.
- **صادق، شريف حسن (2004).** الأحياء الدقيقة الصناعية، منشورات جامعة البعث، قسم الهندسة الغذائية، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية.
- **طه، الشحات محمد رمضان – جمال، راوية فتحي (2005).** ميكروبيولوجيا التخمرات، الطبعة الأولى، دار الفكر العربي، مدينة نصر القاهرة، مصر.
- **علي نظام، عدنان – الأشقر، كمال (2007).** الجزء النظري، منشورات جامعة دمشق، كلية العلوم، مديرية الكتب والمطبوعات.
- **نكلين، جين J. Nicklin– غريم – كوك، ك – كيلينجتون، ر (2008).** مقدمة في علم الأحياء الدقيقة Instant Notes Microbiology، ترجمة الخليل، ع – عارف، إ – حسين، م، منشورات جامعة الملك سعود، النشر العلمي والمطابع، المملكة العربية السعودية.
- **Adams M., Moss M., (2008).** Food Microbiology, third edition, University of Surrey, Guildford, UK, RSC Publishing, the Royal Society of Chemistry.
- **Arkaldeva Z., Bezbaradov A., Blohina I. N. *et al.* (1989).** Industrial Microbiology, Moscow, High school.
- **Brock T.., Madigan M., Martinko J., Parker J., (1994).** Biology of Microorganisms, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey 07632.
- **Hulbert R., (1999):** http: //www.slic2.wsu.edu: B2/hurlbert/ micro101/ pages/chap 19. Html# Ethanol_production.
- **Madigan *et al.*, (2000).** Brock Biology of Microorganisms, 9th edition, Chapters 11, 16. BBS3010 Molecular and applied microbiology, Module: Industrial microbiology.
- Plant life (1975). T_2, Fungi, Russian Encyclopedia for Plants, Moscow, Prosveshenoe.

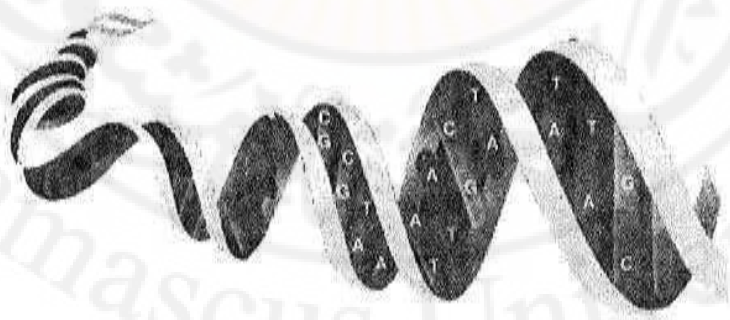
- **Wainwright M., (1992).** An Introduction to fungal biotechnology, Jhon Wiley & Sons Ltd. England.
- http://129.215.156.68/Images/Asexual structures of Aspergillus.
- http:www.clt.astate.edu/mhuss/Apergillus.
- http://www.fgsc.net/ANL/asperg2.
- http://www. Bioweb,uncc.edu/ 1110lab. notes/ notes1/ labpics/ penicillium.
- http://www. Top-10-list. org/ wp-content/ uploads/ 2009/09/ penicillium.
- http://www. upload. wikimedia.org/ commons/4/ 4c/ penicillium.
- http://www. eamlabs. Com/mdd training pictures/ trichoderma.
- http://www. Disachcan.org/wp-content/ uploads/ 2009/09/ trichoderma.
- http://biomkro.vscht. Cz/tr/ documents/ savicka/ zygomycety.
- http://upload. wikimedia. org/ wikipedia/ commons/ c/ c5/ matare-mucor.
- http://www. bluepointenvoronmental. Com/images/ rhizopus.
- http://www. globalcyran. com/ newimages/ rhizopus.
- http://www. institute-rosell-lallemand. com/uploads/ images/ souches/ boulardii.
- http://biotechvnv. edu. vn/vtcc/ components/ com.
- http://luskiewnik.strefa.pl./ acne/ propionibacterium.
- http://pediastrics. aappublication. org/ content/ vol114/ issue6/ images.
- http://genome.igi-psf.org/leume/ leune.
- http://www. uv.es/ genbgbt/imagenes/ fotosbichos/ bacillus.
- http://www. microbelibrary.org/ microbelibrary/ files. ccImages/ Articleimages/ Atlas.
- http://www. genome.microbio. vab.edu/ strep/ imfo/ strep5.
- http://www. upload. wikimedia.org/ wikipedia/ en/6/6c/ streptomyces/

اصطفاء السلالات المنتجة للمواد المهمة صناعياً

Selection of Strains Producing of Industrially Important Substances

يتوقع من المتعلم في نهاية الفصل أن يكون قادراً على أن:

- يحدّد صفات الأحياء الدقيقة الضرورية للاصطفاء.
- يسلسل العمل الاصطفائي الذي يطبّقه على السلالة البرّيّة.
- يقارن بين السلالات البرية والمحسّنة في التطبيقات الصناعية.
- يربط بين الطفرة وتأثيرها الإيجابي في زيادة الإنتاج الصناعي.
- يحدّد مصادر عاثيات الجراثيم وصفاتها.
- يذكر عدداً من الأساليب التي تمكّنه من تحديد عاثيات الجراثيم ومكافحتها.
- يقدّر أهمية التدريب والخبرة في نجاح التطبيقات الميكروبيولوجية.



مفاهيم مفتاحية

- **السلالة البرية Wild Strain**

سلالة طبيعية تنتشر في أي بيئة تكيّفت معها، ولها خصائص تساعدها على ذلك، ويمكن تمييزها اعتماداً على صفات مهمة يمكن بتحديدها معرفة آلية تكيّفها، وإن كانت هذه السلالة تنتج مواد مهمّة بكميات قليلة.

- **الطفرة Mutation**

أي تغيّر يحدث في سَلْسَلَة الأسس ضمن الدنا DNA في أيّ حيّ، ويحدث في أساس واحد؛ فتدعى الطفرة النقطيّة، أو في أكثر من أساس؛ فتدعى الطفرة عديدة المواقع، ويكون التغيّر بتأثير العامل المطفر قاتلاً أو صامتاً.

- **الاصطفاء Selection**

استبدال الأحياء ذات النمط الوراثي المعيّن بنمط وراثي نوعي أمكن اختياره في وجود الظروف الملائمة لنمو هذه الأحياء.

- **التنسيل الجزيئي Molecular Cloning**

طريقة لمعاملة مورثات الأحياء ووضعها في دنا خلايا الأحياء الدقيقة بهدف تكاثر هذه الأحياء، حيث يمكن عزل مورثات الأحياء الأخرى وتضاعفها.

- **البلاسميد Plasmid**

جزيئات صبغية حلزونية خارجة عن الدنا، حلقية (خطية أحياناً) وقادرة على التكاثر بمفردها، تحمل مورثات إضافية مهمة للخلية، وتنتقل بين الأنواع.

- **عاثيات الجراثيم Bacteriophages (Phages)**

فيروسات نوعية تصيب الجراثيم، طفيليّة مجبرة، إمّا محلّلة (ذات فوعة Virulent) وإمّا معتدلة، ويعتمد ذلك على دورة حياتها.

- **مجموعة المزارع Culture Collection**

مزارع متخصصة للأحياء الدقيقة، مسجلة وموثقة ومصانة، هدفها الصون والتقييم وتزويد المشروعات البحثية والصناعية بالسلالات المطلوبة.

310 غرض الاصطفاء Selection Aim

يجري اصطفاء الأحياء الدقيقة بهدف زيادة القدرة الطبيعية لإنتاج مادة مهمة في الصناعة كالإنزيمات والصادات الحيوية والغول وغير ذلك، وإعادة تكوين المركّب الكيميائي المطلوب الناتج ثانيةً من السلالة البرية (الطبيعية) Wild Strain التي تركّب مادة مهمّة معيّنة، وإن كانت غير قادرة على إنتاج هذه المادة الصناعية، بإحداث طفرات قادرة على زيادة تركيب مادة محددة وإنتاجها.

ولابدّ أن تبدي السلالة قيد الدراسة قدرة على تركيب فائض من المادة المعنيّة تزيد فعلاً على احتياجات الخلية وتنتج هذه المادة، وتبقى هذه الزيادة هدفاً دائماً يشغل بال الفنّي الخبير العامل في هذا المجال حتى يحصل في النهاية على سلالة محسّنة قادرة على إنتاج أكبر بأقل كلفة.

ويتطلب استعمال الأحياء الدقيقة في الإنتاج الصناعي وجود جملة من الخصائص يجب أخذها في الحسبان عند ترشيح أي من الأحياء الدقيقة للدخول في العملية الصناعية ((Okafor (2007):

- يجب أن يكون أي من الأحياء الدقيقة الصناعية قابلاً للنمو في وسط بسيط، وألا يتطلب بتفضيل عوامل النمو (مثل: الفيتامينات المقدمة مسبقاً، النكليوتيدات، والحموض)، التي يمكن أن توجد في الوسط الصناعي الذي تنمو فيه، ومن الواضح أن عوامل النمو المضافة تزيد كلفة التخمر، وبالنتيجة كلفة المنتَج النهائي.
- يجب أن يكون أي من الأحياء الدقيقة قابلاً للنمو بقوة وسرعة في وسط الاستعمال، فنموه البطيء من دون أن توجد مادة فعالة، في موعد إنتاج المادة الهدف، يمكن أن يكون عائقاً. والمعدل البطيء للنمو يعرّض السلالة للإقصاء، مقارنة بالمنتِجات الفعالة المعادلة التي تكون أسرع بالنمو، ولمخاطر التلوث. ويكون معدل التقليب أقل في السلالة النامية ببطء؛ وبالتالي يكون رأس المال وينشغل العاملون الفنيون فترات أطول، مع أرباح أقل بالنهاية.

- ليس على أي من السلالات النمو بسرعة وحسب؛ بل عليها أيضاً إنتاج المواد المرغوب فيها، وهي الخلايا أو المنتَجات الاستقلابية على حد سواء، في أقل زمن ممكن، للأسباب المذكورة أعلاه.
- منتَجاتها النهائية يجب ألا تضمن مواد سامة وغير مرغوب فيها، ولاسيما إذا كانت المنتَجات النهائية للاستعمال الداخلي.
- يجب أن يمتلك أي من الأحياء الدقيقة ثباتية وراثية معتدلة؛ وبالتالي فيزيولوجية. فالسلالة التي تطفر بسهولة تكون عرضة للتغير السيء، فقد تُنتج مركبات كيميائية غير مرغوب فيها إذا كانت الطفرة الحاصلة غير ملاحظة، ويمكن أن يكون الإنتاج قليلاً لمركب متوقع، أو يكون إنتاج المنتَج مختلفاً تماماً، أو تُنتج مادة سامة بالفعل. ليس أي من هذه الحالات عاملاً يساعد على تحقيق الهدف من الصناعة، الذي هو تعظيم الأرباح من خلال إنتاج جيد بصفات يمكن التنبؤ بها، والتي اعتادها المستهلك.
- يجب على أي من الأحياء الدقيقة أن تكتسب طريقة مناسبة لحصاد المنتَج في نهاية التخمر، فإذا كانت خميرة أو جرثومة مناسبة لتصنيع جملة من المنتَجات بالتساوي، فالأفضل استعمال الخميرة إذا كان التثفيل طريقة الاستخلاص المناسبة، لأن قطر الجراثيم نحو 1 ميكرون، والخمائر نحو 5 مك، من المفروض أن تكون الكثافة هي ذاتها، فالخمائر ستترسب بسرعة أكثر 25 مرة مما في حال الجراثيم، ستكون نتيجة الترسيب الأسرع إنفاق أقل على الطاقة والإشراف الفني والذي يمكن ترجمته إلى أرباح أكثر.
- حيثما يكون ممكناً، يجب استعمال الأحياء الدقيقة التي تمتلك احتياجات فيزيولوجية تحميها تجاه المنافسة من الملوثات. فالسلالة ذات الإنتاجية المثالية في درجات الحرارة العالية، قيم pH منخفضة أو تلك التي تكون قادرة على التحكم في وسائل التثبيط للمنافسة تمتلك أفضلية صريحة على غيرها، وهكذا فالمنتِج أليف الحرارة الفعّال له الأفضلية على ذلك معتدل الحرارة.

- يجب أن يكون أي من الأحياء الدقيقة مقاوماً للمفترسات مثل *Bdellovibrio* أو عاثيات الجراثيم Bacteriophages؛ لذلك عليه أن يكون جزءاً من البحث الأساسي من التأسيس الصناعي، باستعمال كائن حي حساس للعاثيات لمحاولة إنتاج سلالات من الكائن الحي مقاومة للعاثيات ولكنها عالية الإنتاج.
- حيث يكون الأمر عملياً، فاستعمال الكائن الحي الذي لا يمتلك احتياجاً عالياً جداً للأكسجين، كالتهوية بوساطة مولد ومضخة و..، يقلل نحو 20% من كلفة المنتَج النهائي.
- أخيراً، أي من الأحياء الدقيقة يجب أن يكون عرضة للتحوير الوراثي بسهولة تماماً لتمكين تأسيس السلالات مع صفات مقبولة أكثر.

320 الطفرات Mutations

321 البلاسميدات Plasmids

جزيئات صغيرة من الدنا ثنائية السلسلة خارجة عن الصبغي (وهي دنا صبغي إضافي Extra-chromosomal DNA) حلقية Circular (ويمكن أن يأخذ بعضها شكلاً خطياً Linear كما في *Borrelia* و*Streptomyces* والخمائر)، تبلغ حتى 10% من الصبغي، وتتضاعف على نحو مستقل عن الصبغي، وقد تندمج أحياناً وتتضاعف معه، ومن الممكن أن توجد أنماط مختلفة منها في الخلية الواحدة [علي نظام والأشقر 2007، نيكيلين وآخرون 2008]:

○ النقّالة Transposable	كبيرة وأعدادها قليلة 1 – 3 وحدات ويمكنها الانتقال من خلية لأخرى ولها استعمالات واسعة في المعالجات الوراثية والهندسة الوراثية.
○ غير النقّالة Nontransposable	صغيرة وتوجد بأعداد كبيرة 10 – 60 وحدة ولا تحتوي مورّثات النقل.

وتوجد البلاسميدات في جميع أنواع بدائيات النواة غالباً، وكذلك توجد في بعض حقيقيات النواة فقط كالخمائر، وتحتوي غالبية بدائيات النواة واحداً أو أكثر من أنماط البلاسميدات إلى جانب الصبغيّات التي تمتلكها، وتمتلك البلاسميدات مورثات قادرة على إنتاج بروتينات تمنح المضيف الذي يحتويها صفات مهمة، كالمقاومة لبعض الصّادّات الحيويّة.

وغالباً ما تكون المورثات التي تحملها البلاسميدات مفيدة للخلية، ولكنها ليست ضرورية للنمو العادي والانقسام، وتعتمد البلاسميدات الصغيرة على الخلية المضيفة في النسخ، ويمكن أن تحمل البلاسميدات الكبيرة مورثات إضافية تفيد في عملية النسخ وتدعى الإبيسومات Episomes حيث تلتحم مع الصبغي وتتكاثر معه، وتميل البلاسميدات عديدة النسخ إلى التوزّع عشوائياً بين الخلايا الناشئة، ويمكن أن تكون البلاسميدات المتماثلة غير متوافقة Incompatible في الخلية ذاتها إلا في شروط محددة، وهي 30 مجموعة في *E. coli*، ويمكن أن توجد بلاسميدات جرثومية لم تُعرف أي وظيفة لها.

322 الطفرات Mutations

إن الطفرات المرغوب فيها تفيد في إتاحة إمكانات تركيب كميات فائضة من المادة الصناعية، اعتماداً على عدد من المورثات البنيويّة Structural Genes التي ترمّز للإنزيمات في مراحل التركيب جميعها ونقل المادة الصناعية وهدمها في الخلية، إضافة إلى المورثات المنظِّمة Regulator Genes، ويمكن أن تظهر النتائج في تغيرات متباينة لاستقلاب Metabolism الخلية المنتجة [Arkaldeva *et al.*, 1989]، وفق الآتي:

- ازدياد سرعة امتصاص الخلية للركازات واستعمالها لهذه الركازات.
- ازدياد تركيب الإنزيمات البنيوية أو فاعليتها نتيجة تراجع التحكّم السلبي في التركيب، وفاعلية الإنزيمات المنظِّمة في مسار المادة الناتجة أو أسلافها.

- تقييد التفاعلات التلقائية للتركيب من أجل تخفيض استهلاك الأسلاف في تركيب مستقلّبات أخرى.
- تقييد تحوّل المادة الصناعية داخل الخلية بعد تكوينها، إذا كان ذلك سيحدث.
- تأمين إفراز المادة الصناعية بكميات ملموسة في الوسط المحيط.
- تقييد هدم المادة الصناعية.
- ازدياد الأشكال الإيجابية لتنظيم تركيب المادة الصناعية.

وإذا كانت الإنزيمات التي تفرزها الخلية مادة مهمة في الصناعة، سواء من الأنماط المحلمهة خاصة أم من مجموعة الأكسيد ردوكتاز Oxide reductase، وأهمها المشاركة في هدم الحموض الأمينية، فإن الطفرات التي تؤدي إلى ازدياد تكوّنها وفاعليتها وتجمّعها في الوسط المحيط [Arkaldeva *et al.* 1989]، يمكن أن تقوم على:

- المورّثة البنيويّة التي تؤدّي إلى تركيب الإنزيمات الطافرة غير الحساسة لتثبيط الناتج النهائي و/أو زيادة فاعليتها، ويجب أن تسمح الطفرة بإتاحة تكرارية إدخال النسخة ثانية أو تستدعي تركيب الإنزيمات.
- المورثات الرامزة للبروتينات التي تسهم في تنظيم تركيب الإنزيمات المعنية، فالطفرات في هذه المورثات ذاتها يجب أن تحيّد أو تحدّ من العوامل المحدّدة لتركيب الإنزيمات.
- المورثات الرامزة للإنزيمات التي تحلمه أو تعطّل الإنزيمات الضرورية، فالطفرات لا بدّ أن تحدّ من هذا الاحتمال.
- المورثات المسؤولة عن تركيب مكونات الجدار الخلوي التي تسهم في "تجميع" الإنزيمات وإفرازها (في حقيقيات النواة Eukaryotes)، فقد تزيد الطفرات فاعلية هذه العلميات القائمة.

وجميع هذه الطفرات المساهمة في زيادة تركيب مادة صناعية مهمة لا تزال بحاجة إلى مزيد من الدراسة، ويرتبط ذلك بقلة المعلومات عن مسار التركيب الحيوي لهذا المستقلب أو ذاك، وارتباطه مع العمليات الخلوية الأخرى، فمن الصعب الحصول على معلومات تفصيلية. وحسبنا أن نعلم أن أية طفرة لن تتمكّن من زيادة تركيب مادة معينة؛ إذ إن تحقيق ذلك يتطلّب اندماج بضع طفرات، وكذلك تظهر طفرات "رئيسة" وأخرى "مساعدة"، وهذه الأخيرة تبدو ضرورية لإظهار الأولى أو للتعبير عنها، ومن الممكن غياب المستوى الملموس للإنتاج، حتى في حالة وجود معظم الطفرات الضرورية لتحقيق ذلك نظرياً.

وتعود أهمية وراثة الأحياء الدقيقة [Brock et al., 1994] لعدد من الأسباب:

1) فالوظيفة التي تؤدّيها المورثة هي القاعدة الأساسية في وظيفة الخلية، ولذلك فإن الأبحاث الأساسية في مجال وراثة الأحياء الدقيقة تكتسب أهمية كبيرة في فهم الآلية التي تقوم بها الأحياء الدقيقة في تأدية عملها.
2) لما كانت الأحياء الدقيقة نظماً بسيطة نسبياً فهي تسمح بدراسة الظواهر الوراثية، وتساعد على استكشاف الغموض أو حل شيفرة لدى الأحياء جميعها.
3) تُستعمل الأحياء الدقيقة في عزل وتضاعف المورثات الخاصة بالأحياء الأخرى، بتقنية التنسيل الجزيئي Molecular Cloning، حيث تُعالج المورثات قبل وضعها في خلية الأحياء الدقيقة التي تُحرّض في دورها لتتكاثر بأعداد كبيرة.
4) تُنتج الأحياء الدقيقة العديد من المواد المهمة صناعياً، كالإنزيمات والصادات الحيوية وغيرها، ويمكن تحسينها وزيادة إنتاجيتها بتطبيق العمليات الوراثية، ونقل بعض المورثات المتخصصة في إنتاج مواد مميزة مفيدة لإنتاجها كالإنسولين البشري إلى الأحياء الدقيقة.

5) تُعدّ الخصائص الوراثية العنصر الأساسي في العديد من الأنشطة‌ات الضارة والأمراض الناجمة عن الأحياء الدقيقة، ويمكن بسهولة أن نتحكم في هذه العوامل الضارة، وأن نمنعها من التكاثر والنمو في البدن عن طريق فهم التركيب الوراثي لأي عامل ممرض من الأحياء الدقيقة.

ويمكن التحكم في المرض الفيروسي عن طريق فهم التركيب الوراثي للفيروسات الممرضة.

323 أنماط الطفرات Types of Mutations

❖ الطفرات التلقائية Spontaneous Mutations

تحدث الطفرات التلقائية في الجينوم باستمرار بطريقة عشوائية، وإن كان بعض المناطق في المادة الوراثية أكثر عرضة للتطفير، وتتباين معدلات الطفرات فتحدث طفرة واحدة في كل مورثة كل 10^{4} – 10^{11} دورة تكاثر (وسطياً 10^{6})، ويمكن أن تنشأ الطفرات لأسباب عديدة [نيكيلين وآخرون 2008]، مثل:

1) أخطاء دنا بوليميراز DNA polymerase في أثناء تضاعف الدنا DNA، والخلل الفيزيائي في الدنا؛ 2) والخلل الكيميائي؛ 3) ومعاودة الارتباط ونقل الموضع Transposition.

ومن المهم أن يكون الدنا محمياً بعدد كبير من نظم إصلاح الدنا DNA-repair systems ومهيأ لتقليل معدّل الطفرات.

ويمكن أن تحدث الطفرة التلقائية نتيجة:

(1) وجود أشكال عديدة للأسس القادرة على تكوين أشفاع متباينة، ففي أثناء التضاعف يتحوّل الأدنين صنو التيمين في شكل الأمين Amino form العادي، إلى شكل الإمينو Imino form النادر (تحوّل في شكل الجزيء)، ثم يزدوج مع السيتوزين المغروز في الدنا عوضاً عن التيمين، فإن لم تُصلح الدورة التالية من التكاثر ذلك يتغير شفع الأسس A-T إلى C-G.

(2) انزلاق Slippage خيوط الدنا عند تتابعات نكليوتيدية قصيرة ومتكررة في أثناء تضاعف الدنا، وهو ما يؤدي إلى غرز أو حذف قطعة قصيرة الطول من الدنا، ونادراً ما يُزال أساس من النكليوتيد ويبقى محلُّه فارغاً لا يسمح بازدواج الأسس في الدورة التالية من التكاثر.

(3) الانغراز العشوائي للعناصر النقّالة Transposable Elements في الدنا، وفي حال وجود نسختين أو أكثر من العنصر، فإنها يمكن أن تعمل كمواقع للتأشيب Recombination المتناظر؛ الأمر الذي يؤدي إلى حدوث طفرة الحذف Deletions أو التضاعف Duplication أو العكس Inversions في أقسام من المادة الوراثية.

❖ **الطفرات النقطية Point Mutations**

تحدث الطفرات النقطية نتيجة العبور Transitions التي يُستبدل فيها أحد أسس البُورينات Purines بآخر (G↔A)، أو أحد البريميدينات Pyrimidines بآخر (C↔T)، ويمكن أن تحدث نتيجة انتقالات عكسية Transversions في حال استبدال بالبيورين البريميدين والعكس، لأن تغيّر الأساس في النمط الوراثي Genotype يترك تأثيراً في النمط الظاهري Phenotype، وكذلك في طبيعة الطفرة والموقع الذي تحدث فيه من المادة الوراثية، ولها أربعة أنماط [نيكيلين وآخرون 2008]:

(1) طفرات المعنى نفسه Same Sense Mutations الناتجة عن الوفرة في الشيفرة الوراثية، حيث يغرز الحمض الأميني ذاته في البروتين ولذلك لا يبدو التغيّر في النمط الظاهري.

(2) طفرات خاطئة المعنى Missense Mutation الناتجة عن غرز حمض مختلف في السلسلة، فإذا كان التغيّر في جزء أساسي من البروتين يمكن أن تتغير وظيفته، أما إذا كان في جزء غير أساسي فإن التغير في النمط الظاهري لا يمكن مشاهدته.

(3) طفرات عديمة المعنى Non-sense Mutations الناتجة عن تغيّر في تتابع أساس واحد حيث تُبدّل شفرة تكوين حمض أميني ما إلى شفرة إيقاف؛ الأمر الذي يؤدي إلى تكوين بروتين مبتور.

(4) طفرات تغيير الحوادث Frame Shift Mutations الناتجة عن حذف أساس أو اثنين أو عند غرزه Inserted في تتابع الدنا DNA؛ الأمر الذي يؤدي إلى تغيّر قواعد قراءة الترجمة Translational Reading Frame وينتج حمض أميني متغيّر التتابع ابتداءً من نقطة التغيير.

❖ **الطفرات عديدة الموقع Multi-site Mutations**

يمكن أن تُعكس الطفرة في حال عودتها ثانية إلى تتابع الأسس الأصلية في النمط البري (الطبيعي) وتدعى طفرات الانعكاس Reversions Mutants، ويمكن أن تحدث طفرة ثانية في نقطة مختلفة من المادة الوراثية تعوّض عن تأثير الطفرة الأولى، ويكون التثبيط داخل المورثة أو خارجها.

ويمكن أن تقسم الطفرات اعتماداً على طبيعتها، وفق الآتي:

طفرات التضاعف	Duplications Mutants
طفرات الاستبدال	Substitutions Mutants
طفرات الحذف	Deletions Mutants
طفرات الإقحام	Insertions Mutants

وكذلك يمكن تقسم الطفرات اعتماداً على وظيفتها، وفق الآتي:

(1) طفرات مقاومة Resistant لبعض السموم كالصادات الحيوية أو للإصابة بعاثيات الجراثيم.

(2) طفرات التغذية الأكسينية Auxotrophic التي يتطلّب نموّها تأمين حمض أميني أو فيتامين.

(3) طفرات لا يمكنها استعمال مواد معينة، مثل: اللاكتوز أو المالتوز أو غيرها.

تحدث الطفرات الطبيعية فعلاً في المورثات المتخصصة على نحو نادر جداً، ولا يمكن الاعتماد عليها في تطوير السلالات البرية؛ ولذلك لا بد من تعريض السلالات للعوامل المطفرة لتحقيق هذا الغرض، ويستأثر تطفير عدد من السلالات ذات الأهمية في الإنتاج الصناعي بأهمية كبيرة، وتزداد الحاجة إلى إجراء البحوث على عزل سلالات جديدة من الأوساط الطبيعية بهدف زيادة إنتاج المواد المفيدة ذات الأهمية التطبيقية.

330 المطفرات الكيميافيزيائية Chemophysical Mutagens

تعمل المطفرات بطرائق عديدة (نيكيلين وآخرون 2008)، حيث تؤدي إلى تغيير كبير ودائم في المورثات، وفق الآتي:

(1) تبديل كبير في النظائر الأساسية Base Analogs يكون كافياً لإحداث التطفير، كما في حال استبدال 5-بروموبوراسيل 5-bromouracil و2-أمينو بورين 2-aminopurine وهما يدخلان في الدنا DNA في أثناء التضاعف الاعتيادي.

(2) إقحام مركبات مستوية ثلاثية الحلقات تشبه في الشكل شفعاً من الأسس ضمن الدنا، الأمر الذي يؤدي إلى تشويه الحلزون بانزلاق الدنا عند التضاعف أو غرز الأسس أو حذفها، مثل: بروم الإتيديوم Ethidium bromide والأكريدين البرتقالي Acridine orange.

(3) تبديل الأسس في الدنا الأمر الذي يؤدي إلى خطأ في ازدواج التضاعف التالي، وتبدو معدّلات وراثية DNA-modifying، مثل: الهيبوزانتين hypoxanthine الذي يحوّل C-G إلى T-A.

(4) تعطيل الدنا بالأشعة مثل الأشعة فوق البنفسجية UV وتكوين ديمرات البيريميدين pyrimidine dimers، وبمرات التيمين thymine dimers بين الأسس المتجاورة؛ الأمر الذي يؤدّي إلى تشويه حلزون الدنا DNA، وهذا بحد ذاته ليس مطفراً؛ بل تحدث الطفرات عندما تحاول الخلية إصلاح العطب.

(5) تغيير سلسلة الأسس في الدنا في حال كان ذلك معلوماً، ويستعمل ذلك في المختبر in vitro؛ الأمر الذي ينتج طفرة في السلالة البرية (تحوير وراثي في الجينوم).

340 اختيار السلالات الأولية للاصطفاء

Choose of Initial Strains for Selection

يعود استعمال الأحياء الدقيقة في التطبيقات الصناعية لسهولة الحصول على الكتلة الحيوية وسرعة النمو، وقدرتها على استعمال مواد رخيصة الثمن، كالمخلفات في المقام الأول، وكذلك يعود لتنوع منتَجاتها، وإمكانات التعديل والتحوير الوراثي، وهذا ما يتيح إنتاج مواد جديدة بتطبيق صناعات التخمر، وكثيراً ما أُدخلت الأحياء الدقيقة البرية في التخمرات، وأمكن عزل الأحياء الدقيقة النوعية المستعملة غالباً من البيئة، بتطبيق التحري العشوائي Random Screening لعدد كبير من العزلات Isolates، ويكون البديل من مجموعات المزارع Culture Collections؛ لأن معظم هذه الأحياء الدقيقة غير المتخصصة لمصدرها، أمكن تحويرها لاحقاً عن طريق سلالة محورة باستعمال برامج التطفير أو التربية Breeding، من أجل تحسين صفاتها وتطبيقها في العمليات الصناعية.

لقد نجحت تطبيقات التأشيب وتقانات الهندسة الوراثية في تأسيس السلالات الصناعية، ويعتمد ذلك في الغالب على أهمية الأحياء الدقيقة المختارة من أجل الأغراض الصناعية.

تفضل صناعات التخمر غالباً استعمال الأحياء الدقيقة التي ينظر إليها كمصادر آمنة Generally Regarded as Safe GRAS، ولاسيما في مصانع المنتجات الغذائية ومكوّناتها؛ لأن متطلبات الموافقة على استعمال سلالات "جديدة" عالية الكلفة جداً في العملية والمنتج تكون شديدة الصرامة، فلا بد من تطبيق مقاييس أمان إضافية حيثما تُستعمل العوامل الممرضة وبعض الأحياء الدقيقة المعدلة وراثياً Genetically Manipulated Microorganisms GMMs كأحياء منتِجة.

341 تحسين السلالة Strain Improving

تعاني العزلات الأولية Initial Isolates عمليات تحوير على نطاق واسع في المختبرات بهدف تحسين الناتج الصناعي، كالبنسلين الذي تنتجه فطريات النوع *Penicillium chrysogenum* الذي زاد إنتاجه من 1 - 10 مكغ/مل إلى 50,000 مكغ/مل، بتحسين شروط النمو والتطفير والاصطفاء، من دون الاعتماد على معالجات الهندسة الوراثية التي يمكن أن تزيد كمية الإنتاج إلى حدّ كبير أكثر مما هو متوقع [Brock *et al.*, 1994].

342 العزل Isolation

يمكن تقسيم الاستراتيجيات التي اتخذت لعزل الأحياء الدقيقة المناسبة من البيئة Environment إلى نمطين:

- العزل العشوائي، حيث تُجمع عينات من الأحياء الدقيقة حرة العيش، والرفاقات الحيوية، ومجتمعات الأحياء الدقيقة الأخرى بدءاً من مصادر المواد الحيوانية والنباتية والتربة ومياه الصرف المنزلي، وجداول المياه والمخلفات، ولاسيما الموائل التي يشيدها الإنسان بصورة غير اعتيادية وكذلك الموائل الطبيعية.
- العزل الغرضي Objective، ويعتمد على البحث عن الميزة المرغوب فيها Desirable Traits في العزلات وغربلتها، فالخيار يكون بحصر

الجهد أكثر عن طريق الاعتيان Sampling من المواقع النوعية Specific Sites حيث تكون الخصائص المرغوب فيها مختارة بعناية لتكون شبيهة بمكونات الجماعات الطبيعية، فمثلاً: عند محاولة عزل كائن حي قادر على تفكيك أو إزالة سمية مركب هدف نوعي، نلجأ عادة إلى مواقع الاعتيان حيث يسود التلوث بهذه المادة، أي يمكن اختيار الظروف البيئية من أجل الأحياء الدقيقة التي يمكنها معدَنة هذا المركب.

وكثيراً ما نواجه مشكلات في التعامل مع العينات، ويمكن حسمها على وسط الاستزراع وظروف النمو التي يجب استعمالها لعزل الأحياء الدقيقة الهدف، وتكون الخطوة الابتدائية غالباً بقتل أو كبح تكاثر الأحياء العامة وتحريض نمو السلالات قليلة الكثافة، وهذا يحرض نمو تلك الأحياء مع الميزات المرغوب فيها، ويزيد كمية الأحياء الهدف تلك، قبل العزل والتحري، ولكن هذا الأسلوب من الاصطفاء مناسب فقط لتلك الحالات حيث تشترط الميزة المرغوب فيها أفضلية تنافسية.

ولكي نتمكّن من عزل مزارع نقية Pure Cultures على الوسط الصلب لا بد من اختيار الوسط الاصطفائي المناسب أو تطويره، وكذلك اختيار ظروف النمو، ويجب تحري كل سلالة في مزارع نقية من أجل الصفة المرغوب فيها، وإنتاج إنزيمات نوعية، ومركب مثبّط، وغيرها.. ولكن، لا يكون مستوى النشاط أو تركيز المنتَج الهدف Target Product بالأهمية الكبرى كتطور السلالة التي يمكن أن تفيد طبيعياً في تحسين واضح.

فالعزلات التي جرى اصطفاؤها يجب أن تتعرّض للتحري من أجل الميزات المهمة الأخرى، مثل الاستقرار وانعدام السمية حيثما يكون ذلك ضرورياً، وهذا كله سهل على أي من الأنواع بمفرده، ولكن تواجهنا مشكلة عند عزل جملة من الأنواع لها خاصية واحدة مرغوب فيها، وهي متغيرة بوضوح مع الزمن، حيث تشارك معاً وتبدو أكثر نشاطاً في تفكيك مركب معقد عسر.

ونذكر من طرائق العزل الآتي:

(1) استعمال الأطباق

يمكن عزل مستعمرات مستقلة لمعظم الجراثيم والخمائر والعديد من الأحياء الدقيقة مفردة الخلية بعملية استزراع على أوساط غذائية صلبة مناسبة، باستعمال الآغار أو هلام السيليكا، ونقل جزء صغير من المُعلّق بالإبرة ذات العقدة وتخطيط سطح الوسط في أطباق بتري، فتنعزل مستعمرات منفردة في آخر الخطوط.

أو بتوزيع مقدار محدّد من التخفيفات المناسبة في أطباق بتري وخلطها مع الوسط المنصهر المبرّد وتركها حتى تتصلب، فتتكوّن مستعمرات فرديّة منغمسة في حال الجراثيم اللاهوائية المجبرة فيما لو تحمّلت الأكسجين قليلاً، حيث يُزال الأكسجين منها بالامتصاص الكيميائي في أوعية مُحكمة الإغلاق.

(2) استعمال المزرعة المهتزة

بعد تحضير 6 – 10 تخفيفات من الوسط ذاته بالترتيب (لأنابيب فيها آغار منصهر ومبرّد وملقّح حيث يُرجّ ويلقح الأنبوب التالي بمقدار 1 سم^3 منه) تبرّد الأنابيب بسرعة وتغلق بإحكام بالبرفين، ويُزال الأكسجين بالامتصاص الكيميائي، فتنمو مستعمرات في المزرعة المهتزة على امتداد عمق عمود الآغار، حيث يُستخرج عمود الآغار ويوضع في شروط خاصة في طبق بتري معقم، ويُخطط على طبق آخر أو تُجرى سلسلة من المزارع المهتزة.

(3) الخلية الفردية

يمكن عزل خلية فردية، في حال لم تكن أساليب العزل بالأطباق أو المزرعة المهتزة مناسبة، باستعمال المجهر، حيث تفيد الماصة الشعرية الدقيقة في التقاط خلية فردية من الطحالب مفردة الخلية مثلاً، ثم نقلها إلى حجم من الوسط المعقّم لغسلها وإزالة الجراثيم، بينما تحتاج العملية إلى أدوات أكثر دقة مثل: المُنابِلُ الصّغري Micromanipulator.

لا يمكن أن تنجح أية عملية صناعية ميكروبيولوجية دون توافر سلالة من الأحياء القادرة على إعطاء الناتج المطلوب، ولا بد أن تتصف بالآتي:

1 أن تكون ثابتة وراثياً.

2 أن تنتج بسهولة خلايا إعاشية أو أبواغ أو وحدات تكاثرية أخرى.

3 أن تنمو بنشاط وسرعة بعد عملية التلقيح في الأوعية المناسبة لتحضير كميات كبيرة من اللقح قبل بدء التخمر الصناعي.

4 أن تكون مزرعة نقية.

5 أن تعطي الناتج المطلوب خلال فترة قصيرة من الزمن (ثلاثة أيام أو أكثر قليلاً)، وأن يكون المنتج قابلاً للفصل.

6 ألا تكوّن مواد سامة.

7 أن تكون قادرة على مقاومة التلوث ما أمكن ذلك، وقد تأخذ الحماية الذاتية شكل خفض الرقم الهدرجيني أو النمو على درجة حرارة عالية أو سريعة التطور لمثبط ميكروبي مرغوب فيه.

8 إمكان الاحتفاظ بها بصورة سهلة لفترة طويلة ومعقولة من الزمن.

9 سهولة الانقياد للتغيير بعوامل التطفير التي تسمح بتطوير سلالات تعطي حاصلاً متزايداً من المُنتَج.

10 أن تعطي كمية يمكن التنبؤ بها من المُنتَج المرغوب في وقت تخمري معين.

وأما مصادر الأحياء الدقيقة فهي الطبيعة، إلا أن فرص إيجاد سلالة ذات قيمة تكون غير كبيرة لأن عدداً قليلاً فقط من المجموع الميكروبي الطبيعي يمتلك الميزات والخصائص المرغوب فيها، ويتطلب ذلك خبرة عملية فائقة وحتى البحث في مواقع بعيدة.

تعد التربة المصدر الأساسي كونها الوعاء الذي يحتوي أعداداً هائلة من الأحياء الدقيقة ذات العلاقات المتباينة، ومن ثم المياه والخضار والفواكه.

343 الأوساط الاصطفائية Selective Media

يمكن عزل الأنواع القادرة على استعمال الأوساط الاصطفائية المثبّطة لعدد كبير من الأحياء الدقيقة الأخرى بفعل مواد فعّالة، كالبنسلين Penicillin المثبّط لنمو الجراثيم الموجبة بصبغة غرام، ويمكن استعماله لعزل الجراثيم السالبة بصبغة غرام، وهذا الصاد سامّ لبدائيات النواة ويمكن استعماله لعزل الفطريات والطحالب الملوّثة بالجراثيم، والنيستاتين Nystatin سامّ لحقيقيّات النواة ويمكن استعماله لعزل الجراثيم الملوّثة بالفطريات، ويمكن عزل الجراثيم الموجبة بصبغة غرام باستعمال البوليمكسين Polymyxin B المثبّطة للجراثيم السالبة بصبغة غرام.

344 تنقية المزارع وحفظها

Purification and Conservation of Cultures

يمكن الحصول على مزرعة نقية Pure Culture من مستعمرة نشأت من خلية أو بوغ فردي، وأحياناً من مستعمرات نشأت من خلية نهائية في قِمّة الخيط الفطري، ولذلك لا بدّ من تجديد المزارع على فترات منتظمة (1 – 6 أشهر بحسب نوع المزرعة) بهدف صونها، وعندئذ يجب مراقبة صفات المزرعة وتسجيلها، مثل:

(1) المظهر؛ ومعدل النموّ.

(2) المظهر المجهري للخلايا الحية والمثبّتة والملوّنة.

(3) التحقق من كفاءة السلالة المدروسة باختبار كمية الناتج المرغوب فيه على فترات منتظمة.

والاكتشاف المبكّر لتلوث المزارع أمر مهمّ، وإن كان عزل مزارع معيّنة عن أنواع تنتمي إلى أجناس أخرى يسراً بسبب التباين الشكلي، فإن انخفاض ناتج التخمر وسيلة لاستكشاف الأنواع المتشابهة بالمظهر، ويمكن استعمال الصادات الحيوية ذات السمية الاصطفائية لتجنب التلوث بالأحياء الدقيقة الأخرى، فمثلاً:

(1) يثبّط Cycloheximide نمو الخمائر وبعض الفطريات ويحفظ مزارع الجراثيم والشعاعيات بإضافته إلى أوساطها بتركيز 100 مكغ/مل.

(2) يثبّط Neomycin sulphate الشعاعيات، ويفيد في حفظ مزارع الفطريات بإضافته بتركيز 20 مكغ /مل.

(3) يثبّط Sodium salt benzylpenicillin العديد من الجراثيم، ويفيد في حفظ مزارع الفطريات والشعيات بتركيز 40 مكغ/مل.

(4) يثبّط خليط Oxytetracyclin hydrochloride (5 مكغ/مل) مع Lagosin (20 مكغ/مل) الجراثيم والفطريات، ويفيد في حفظ مزارع الشعاعيات.

ونصون حيوية المزارع بتجديدها دورياً على الأوساط المناسبة، في درجة الحرارة الفضلى (عادة 25 س° للفطريات، و28 س° للشعيات، و37 س° للجراثيم، و60 س° للأحياء الدقيقة أليفة الحرارة المرتفعة)، وعند تكرار التجديد قد تظهر مشكلات مثل تغيّرات متباينة في صفات فطر معيّن:

- ✓ فقدان القدرة على تكوين الكونيدات Conidia أو الأجسام الثمرية.
- ✓ انخفاض معدل النمو.
- ✓ فقدان القدرة على إنتاج مركب ما.

ويمكن الحفاظ على ثبات المزارع أو تقليل تغير صفاتها بالتحكّم الدقيق في الضوء ومصدر النتروجين أو السكّريّات، أو تأمين أحد الفيتامينات، أو زيادة التهوية، ويمكن صون المزارع في حالة خمول حيوي فترات طويلة، كالتبريد في درجة الحرارة 4 س°، وإن كان بعض الأنواع قادراً على النمو في هذه الدرجة، والتجفيد Lyophilization طريقة رائعة لصون المزارع المتبوّغة قبل تغليفها، ويمكن صون مزارع الشعاعيات عدة سنوات من دون أي تغيّر في صفاتها.

345 مجموعات المزارع Culture Collections

تزودنا المزارع بمصدر زاخر من الأحياء الدقيقة التي كانت في الماضي والحاضر والمستقبل المحتمل تستأثر بأهمية كبيرة، فهنالك نحو 500 مجموعة للمزارع في العالم، معظمها صغير ومجموعات متخصصة تفيد في تأمين المزارع أو الخدمات المرتبطة بها، باتفاقية خاصة فقط.

أما الأخرى فهي مسجلة كمجموعات وطنية، وتتضمن القوائم المنشورة تسجيل الأحياء التي تفيد في تقييم وتزويد خدمات شاملة، من أجل المنظمات الصناعية والأكاديمية في البلدان المتطورة.

أما الوظائف الأساسية لمجموعات المزارع فهي:

- ✓ صون المجموعة الباقية.
- ✓ متابعة جمع سلالات جديدة.
- ✓ التزويد بعينات المزارع النقية والموثقة Authenticated لكل من السلالات الصناعية.
- ✓ تطوير تقنيات الحفظ البارد Cryopreservation واستعمالها، والتجفيد Lyophilazation بهدف تعزيز مشكلات حفظ المزارع.

وننوه إلى أن على البلدان النامية أن تكون قادرة على التعامل مع التطور السريع لنظام حقوق الملكية الفكرية IPR، ويجب التأكد من أن تشريعاتهم وإجراءاتهم تُشدد على تنفيذ IPR من خلال تأمين إجراء إداري تنفيذي ملازم لنظام مدني قضائي.

ويجب بذل الجهود للحصول على أكبر قدر ممكن من الفوائد مع ضرورة تخفيض التكاليف وتحقيق الكفاءات الإدارية في آلية التعاون الإقليمي والعالمي الموجودة من خلال العديد من الاتفاقات الثنائية المبرمة في مجال حقوق الملكية الفكرية (Crop Biotech, 2005).

وهنالك أداة جديدة تمكّن الباحثين من الدخول إلى كافة براءات التقانات من أجل أبحاثهم، تسمى التحسين الحيوي (البيولوجي) BIOS من أجل مجتمع مفتوح، فهي رخصة ذات مصدر مفتوح ويمكن من خلالها توزيع البراءات، ويمكن تقييم أي تطوير على تقانة منحت رخصتها اللجنة من أجل التسويق، ويمكن للباحثين البدء بمشروع جديد، والانضمام إلى مشروع قائم أو المشاركة بالمعلومات من خلال الموقع BioForge.

(http://www.bioforge.net/)

يمكن للمشاركين في الموقع اللقاء على الإنترنت، وعلى الذين دخلوا إلى الموقع واطلعوا على المعلومات أن يشاركوا بتطويراتهم الخاصة في مجموعة التراخيص.

إن واحدة من التقانات المتوافرة في الموقع هي تقانة Trans-Bacter، وهي طريقة جديدة من أجل نقل المورثات إلى النباتات باستعمال أنواع جرثومية غير *Agrobacterium tumefaciens*، فهنالك العديد من أنواع الجراثيم التي يمكن لها أن تنقل المورثات غير *Agrobacterium*.

تستطيع الآن شركات التقانة الحيوية الصغيرة، والقطاع العام والدول النامية الدخول والاطلاع على هذه التقانات من أجل تطويرها (Crop Biotech April 29, 2005).

346 ثباتية السلالة Strain Stability

تكون الثباتية العامل الحاسم في تطور سلالات جديدة، ومن المهم حفظ مزارع الأصل Stock Culture وخزنها فصفاتها التي تعرّضت للاصطفاء مأخوذة بعناية، وقد يتضمن ذلك الحفظ في النتروجين السائل أو التجفيد.

ويجب حفظ السلالات المحوّلة بوساطة البلاسميدات في اصطفاء مستمر لضمان ثباتية البلاسميد باقياً.

ويمكن أن يكون عدم ثباتيتها نتيجة حذف وإعادة تنظيم البلاسميدات المؤشبة، أو فقدان البلاسميد.

347 اختيار المواد الخام Choose of Raw Materials

تؤثر في الاختيار النهائي للمواد الخام الفردية من أجل تنمية الأحياء الدقيقة العوامل الأساسية الآتية:

- ✓ الكلفة والمقدرة: مثالياً، يجب أن تكون المواد رخيصة الثمن، وذات نوعية ثابتة، ولها فاعلية حتى سنة.
- ✓ تسهيل الحمل في الأشكال الصلبة أو السائلة، وما يرتبط بالتكاليف

كالنقل والخزن، ومتطلبات ضبط درجة الحرارة مثلاً.

- ✓ متطلبات التعقيم وأي مشكلة للتمسخ Denaturation المحتمل.
- ✓ خصائص التشكيل والتحريك والتعقيد واللزوجة التي تؤثر في التقليب والتهوية وتكوين الرغوة خلال التخمر وجريان أطوار العملية.
- ✓ تركيز المنتج الهدف المحقق، ومعدله للتخمر والحاصل لكل غرام من الركازة المستعملة.
- ✓ مستويات ومجال التلوث، واحتمال إنتاج آخر لمنتجات غير مرغوب فيها، خلال العملية.
- ✓ الأمان وسلامة الصحة العامة.

وليس التركيب النهائي للأوساط الصناعية وحده المهم في طور التخمر، فالركازة الخام باستثناء الكلفة الأولية، وكذلك المستويات العالية غير المرغوب فيها تزيد الكلفة، وكذلك استرداد Recovery المعقد وجريان خطوات التنقية، وربما أيضاً تزيد معالجة المخلفات الكلفة.

كما أن الصفات الفيزيائية والكيميائية للوسط المتكوّن يمكن أن تؤثر في عمليات التعقيم مع أضرار حرارية بحدها الأدنى ويكون ذلك مهماً جداً، لأن الضرر الحراري يخفض مستوى الجودة، وربما يمكنه أيضاً أن يقلل المنتجات الثانوية المثبطة المحتملة التي تتداخل مع جريان العملية.

إن البيئة موئل لجميع سلالات الأحياء الدقيقة، وإن امتلكت التطبيقات الصناعية في العقود الأخيرة خاصةً سلالات منتجة على نطاق واسع في شروط دقيقة لعمليات شديدة الإتقان، وأمكن تسجيلها وترخيصها وهي فعلاً قادرة على تحقيق هذه العمليات، وذات صلاحيّة كمصادر للاستزراع.

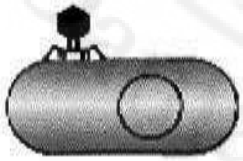
ولابد من البحث الدائم عن الأحياء الدقيقة في مصادرها، وعن احتمالات دخولها في تطبيقات جديدة وتسجيلها، وتطويرها، وتحويرها اليوم وفي المستقبل.

350 مصادر عاثيات الجراثيم في الصناعات الميكروبيولوجية
Sources of Bacteriophages in Microbiological Industries

عاثيات الجراثيم Bacteriophages (الفاجات Phages) هي فيروسات مجبرة التطفّل تصيب بدائيات النواة (الشكل 3-1)، ويمكنها أن تبقى كدقائق خارج الخلية المضيفة، ولها أشكال متباينة، كروية أو خيطية أو بنيات معقدة، والجينوم دنا أو رنا، مفرد أو مزدوج، حلقي أو خطي، ودورة حياتها محلّلة أو معتدلة، وقد أسهمت الدراسات الجزيئية والوراثة الجزيئية، والطرائق الحديثة في علم الوراثة - كالهندسة الوراثية والتقانات الحيوية إسهاماً ملموساً في دراسة عاثيات الجراثيم، ولاسيما من النواحي الوراثية.

ويمكن أن ترتبط الصناعة الميكروبيولوجية المستعملة لأنواع جرثومية معينة في الإنتاج بعاثيات الجراثيم في ظروف محدّدة؛ لأن الجراثيم في الأجهزة الصناعية أي المخمّرات Fermenters تتعرّض للتحلّل بالعاثيات Phagolysis؛ مما يؤدي إلى انخفاض الناتج النهائي أو انخفاض جودته، وحصول خسائر اقتصادية.

ولما كانت الصناعات تستعمل عادة عدداً محدّداً من أنواع الجراثيم، فإنّه عند تعرّضها لتحلّل كبير ووصول عاثيات محدّدة إلى الوسط تحدث تغيّرات مهمّة في تركيب سلالات الجراثيم، إلى جانب التأثير المتبادل بين العاثيات "الصناعية" والعاثيات "الطبيعية"، فتظهر نويعات Varieties من العاثيات جديدة وراثياً في الظروف الطبيعية التي تكون أكثر قدرة على إصابة أنواع الجراثيم المنتجة أو أنواع قريبة منها وراثياً؛ مما يؤدي إلى تخريب العلاقات الاجتماعية الحيوية المتكوّنة.



الشكل 3-1 عاثيات الجراثيم.

ويرتبط وقوع عاثيات الجراثيم في الصناعة ارتباطاً وثيقاً بطبيعة الصناعة نفسها، ويمكن تطوير الأجهزة الصناعية في حال استعمال سلالة جرثومية فقط حتى الوصول إلى حالة عقيمة من الناحية الميكروبيولوجية.

351 العاثيات الخارجية Exogenic Phages

تتعرّض الأحواض المفتوحة المستعملة في الصناعة الميكروبيولوجية لسقوط العاثيات من الهواء، كما تصل إليها العاثيات مع المضافات وغيرها، ولذلك فإنّ العاثيات المحلّلة تنشأ أساساً من الأنماط التي تصل من الخارج، كما في حالات صناعة الأجبان والخمور.

ولذلك تُتّخذ تدابير فعّالة لمنع وصول العاثيات إلى العمليات الجارية؛ لأن الإخلال بالظروف التقنية المحدّدة، كالتعقيم غير المناسب للوسط والهواء والمواد المضافة وغيرها، يتيح نشوء ظاهرة التحلّل بالعاثيات الخارجية.

352 العاثيات الداخلية Endogenic Phages

يمكن أن تُستعمل في حالات نادرة أنواع من الجراثيم المنتِجة مصابة بعاثيات محلّلة؛ الأمر الذي يجعل إمكان نشوء طافرات محلّلة ذات فوعة Virulence، ويجب أن تكون العاثيات ذات المنشأ الداخلي مصدراً أساسياً لتحلّل الجراثيم المنتِجة، وإنّ معرفة الخواص الأساسية لعاثيات الجراثيم الموجودة في الصناعة ومقارنتها بالأنماط المعروفة في المجال نفسه عملية مهمة لإظهار مصادر العاثيات، وكذلك لاختيار وسيلة المكافحة.

العاثيات Phages ذات المنشأ الداخلي هي طافرات ذات فوعة Virulence من طلائع العاثيات للجراثيم المنتِجة المتحلّلة في جريان العمليات الميكروبيولوجية الصناعية.

وبعد إظهار حالات مشكوك فيها للتحلّل بالعاثيات Phagolysis يصبح تحديد الدور المحتمل لها في إخفاق العملية الصناعية أمراً حتمياً، ويتضمّن ذلك تحديد العاثيات ذاتها والكشف عن خصائصها.

وهكذا، يُحدّد مصدر العاثيات الجرثومية في الصناعة الميكروبيولوجية، سواء أكانت داخلية أم خارجية، ثم يُحدّد تنوّعها الطبيعي أو الطافر أو غير ذلك، ويُقارن بالتنوّعات المعروفة أو يسجّل أوّل مرّة.

360 الطرائق البسيطة لتحديد عاثيات الجراثيم

Simple Methods to Specify Bacteriophages

361 اختبار دورة النمو وحيدة الخطوة

One-stepped Cycle of Growth Test

من أجل تحقيق هذا الاختبار، لا بد من تأمين تنامي العاثيات في مضيفاتها في اللحظة ذاتها، ويمكن تحقيق ذلك بأساليب مختلفة [Arkaldeva *et al.* 1989]، وفق الآتي:

(1) الامتزاز في الوسط السائل

يمكن على نحو جيد إجراء عملية امتزاز Adsorption للعاثيات القابلة للامتزاز في الوسط السائل خلال فترة قصيرة من الزمن (3 – 5 دقائق)، ويُجرى ذلك بضبط عدد الجراثيم المصابة باختيار طريقة الاختبار المتعدد لإصابة الخلايا، أما العاثيات غير القابلة للامتزاز فتُستخرج عن طريق المعالجة بلقاح مضاد للعاثيات أو بالتثفيل Centrifugation في شروط تمنع التنامي. وإذا كانت العاثيات تمتزّ على نحو سيء في الوسط السائل فإنّه يمكن استعمال المثبّطات Inhibitors التي تمنع بداية تنامي العاثيات من أجل زيادة مدة الامتزاز، مثل: مثبطات تركيب البروتين، والسموم التنفسية، وتجويع الخلايا المضيفة في وسط فقير.

(2) الامتزاز في الوسط الصلب

يمكن تحقيق ذلك على الأوساط الغذائية في أطباق بتري، في شروط تمنع بداية تنامي العاثيات، وبعد استخراج العاثيات غير الممتزّة، وتخفيف

المزيج الامتزازي في وسط طازج يبدأ فعلاً تنامي العاثيات في لحظة واحدة في جميع الجراثيم المصابة، ويمكن تقسيم زمن تنامي العاثيات داخل الخلية إلى ثلاث فترات:

- مدّة الكسوف Eclipse (hide) Period: هي الزمن من بدء الإصابة عند اختراق جينوم العاثيات للجراثيم حتى ظهور أول دقائق للعاثيات الناضجة، وخلال هذا الزمن تجري جميع عمليات تكوين التنامي داخل الخلوي الضرورية لتكوين أجيال جديدة من العاثيات، وهذه المدة دليل ثابت جداً عادة.
- مدّة الكمون Latent Period: هي الزمن من بدء الإصابة حتى بداية التحلّل الطبيعي للجراثيم مع تحرير الأجيال الناشئة من العاثيات، وهذه المدة دليل ثابت جداً عادة.
- مدّة التحلّل Lytic Period: هي الفاصل الزمني من بدء تحلّل الخلية الأولى حتى نهاية تحلّل معظم الخلايا المصابة، ولكنّ زمن التحلّل وقيمة الناتج ليس دالة مأمونة جداً، ويعود ذلك إلى تأثير عوامل مختلفة من الوسط الخارجي، مثل: عمر الجراثيم الأخرى، وتتأخر التصفية المرئية للمعلق الجرثومي عن بدء التحلّل.

362 المستعمرات السلبية Negative Colonies

تبدو مناطق الإصابة متألّقةً على سطح الوسط الصلب أو شبه الصلب، وهي بقع عقيمة بسبب التحلّل بالعاثيات، وتدعى أحياناً البقع العقيمة، ويعدّ مظهر هذه المستعمرات السلبية دالةً نوعيّةً جداً لعاثيات معيّنة أو لمجموعة من العاثيات المتشابهة وراثياً والدّالات التي تسمح بتمييز مستعمرة سلبية لأحد العاثيات من العاثيات الأخرى متباينة بسبب:

1) وجود مناطق التحلّل المركزي وحجمه.
2) وجود النمو ودرجته وطابعه في هذه المنطقة للجراثيم المقاومة التي تحدّد درجة تعكّر مركز المستعمرة.
3) وجود الهالة وحجمها (وهي تتعلّق غالباً بإفراز الخلايا للإنزيمات الحالّة).
4) صفات حافة المستعمرة (تامّة أو مسنّنة، واضحة أو متغلغلة تدريجياً في الوسط شبه الصلب).
5) وأحياناً، يكون هذا الأخير دالّة نوعية لعاثيات معيّنة – حيث تتّصف المستعمرات السلبية بوجود ظلّ مزرقّ في الضوء المنعكس، والمظهر نوعي للمستعمرة السلبية للعاثيات المعتدلة، ففي مراكزها تنمو الجراثيم المتحلّلة عادة، وإن كان النمو الجرثومي لا يلاحظ بالضرورة في مركز المستعمرات السلبية للعاثيات المعتدلة جميعها.

ولا يوجد أي ارتباط بين حجم المستعمرات السلبية وحجم دقائق عاثيات الجراثيم، كما يؤدي "انفجار" الجراثيم إلى طرح دقائق عاثيات الجراثيم الأمر الذي ينتهي بتكوين حواف خاصة أحياناً للمستعمرة السلبية، وإن اختلفت المستعمرات السلبية بأي دالّة فإن عاثيات الجراثيم تكون متباينة، وبالتأكيد يعكس اختلاف المظهر تباين عاثيات الجراثيم.

363 طيف فاعليّة التحلّل Spectrum of Lytic Activity

يتميّز طيف فاعلية التحلّل، أي دائرة الثوي وعاثيات الجراثيم بأهمية كبيرة في تعريف عاثيات الجراثيم وتصنيفها، ويجب الأخذ في الحسبان الشرط المحدّد لهذه الخاصّيّة، لأنّ اختيار مجموعات السلالات الجرثومية من الأنواع المختلفة للتحقّق من قدرتها على صون نموّ العاثيات المعنيّة غير مضمون، والحكم الأوليّ على أساس الاختبارات النوعية والاستنتاج النهائي يقوم على أساس غياب المستعمرات السلبية، ولتكوين المستعمرات السلبيّة لا بد من بلوغ حجم معيّن من الناتج (عادة 5 – 10 دقائق فيروسية في الخلية).

ولضمان استعمال خواص فاعلية التحلّل للعاثيات كمقياس للتحديد، من الضروري استعمال:

أولاً.	مجموعة واسعة من الأثوياء الكامنة، بما في ذلك المنتمية إلى الأنواع المختلفة، الشبيهة بالعاثيات المعينة.
ثانياً.	توسيع المجموعة بضم الطافرات المقاومة المختلفة من الجراثيم المختارة تجاه العاثيات المختلفة.
ثالثاً.	تفسير سبب غياب نمو العاثيات في الثوي (لو أمكن ذلك) الذي لا يصون النمو (غياب الامتزاز، كبح التنامي داخل الخلية). ويؤدي توسيع فاعلية التحلّل في الصناعة إلى ظهور العاثيات كوسيلة محلّلة Lytic Agent.

370 الصفات الكيميافيزيائية لدقائق عاثيات الجراثيم

Chemophysical Properties of Bacteriophages Virions

- إنّ التنوّع غير كبير في الصفات الشكليّة، وفي حجم الدقائق، وفي حجم الجينوم للعاثيات المتشابهة وراثياً، مع أنه يمكن أحياناً عزل عاثيات طبيعية ذات جزء مفقود من الجينوم من النمط لامدا λ مثلاً، وتتمتّع العاثيات المتشابهة وراثياً بأشكال للدقائق مختلفة تماماً، كذلك فإنه في أثناء التثفيل Centrifugation يمكن تحديد كتلة العاثيات المدروسة وحجم دقائقها مقارنة بأنماط معروفة.
- تبدو مقاومة دقائق العاثيات الجرثومية لعوامل التعطيل صفة لها أهميّتها، وذات تأثير في التحديد الأولي للعاثيات المتشابهة، فالتحسس للكلوروفورم يعكس وجود الشحوم في بنية القفيصة Capsid (Coat)، ويمكن دراسة التحسس للتسخين والمعالجة بعامل متمخلب (Chelate) والأشعة فوق البنفسجية UV، وعندئذ لا يمكن البحث في الصفات الظاهرية.

وهناك مجموعات غير شبيهة تماماً إلى حدّ ما بالعاثيات الحساسة لمعالجة الكلوروفورم، مثل:

PM_2، F_{116}، PPOI، $Ø_6$.

يفيد استعمال بعض الأساليب المذكورة سابقاً لتحديد أولي للعاثيات إلى حدّ كافٍ للوصول إلى نتيجة لانتماء محتمل نسبياً للعاثيات المستخلصة من جديد في الصناعة إلى أنماط معروفة أو مجموعة أخرى جديدة، من أجل اتباع طريقة لمكافحة العاثيات ذات الفوعة دون انتظار نتائج التصنيف النهائي للعاثيات التي يمكن الحصول عليها بوسائل تحليل غير متوافرة في مختبر المصنع.

380 مكافحة التحلل بالعاثيات في الظروف الصناعية

Phagolysis Control in Industrial Conditions

تعمل وحدة مكافحة العاثيات في المعمل على منع التحلّل بالعاثيات وإخماد ثورتها في الظروف الصناعية، ومن الضروري أن تضم:

مختبر المصنع	يبحث عن العاثيات المسببة لفشل التخمر Fermentation.
مختبر الأبحاث العلمية	يختص في العاثيات الجرثومية، ويدرس بعمق صفاتها حتى تصنيفها (يتطلب وجود أجهزة باهظة وكواشف) بعيداً عن المصنع لمنع أخطار انتشارها.
مختبر الأبحاث العلمية والاصطفاء والوراثة	يجري دراسات واصطفاء للأشكال النشطة للمنتج الموافق، واصطفاء تنوعات الجراثيم المنتِجة المقاومة للعاثيات، وغياب الصفات غير المرغوب فيها.

وتعمل المختبرات الثلاثة بالتنسيق معاً لمكافحة العاثيات باستكشاف التحلّل بالعاثيات ومنعه، ولذلك تُعنى وحدة مكافحة العاثيات بالآتي:

- ✓ المراقبة المستمرة لخلفية العاثيات في المصنع، ورسم صيغة انتشارها فيه، واستبدال المنتِجات عند ظهور العاثيات النشطة الفعّالة.
- ✓ اختبار تحسس مجمل السلالات الصناعية تجاه العاثيات المعروفة بارتباطها مع نوع معين، واختبار قابلية التحلل وغيرها من الصفات المهمة.
- ✓ التفتيش الاستكشافي عن عاثيات جديدة فعّالة مؤثرة في أنواع المنتِجات وشبيهاتها، واصطفاء التنوّعات المقاومة تجاه العاثيات الموافقة، ودراسة آلية مقاومتها، وتصنيف العاثيات اعتماداً على تحليل الدنا والبروتينات.
- ✓ دراسة عمليات الحفاظ على الخصائص الصناعية، كالإنتاجية وغيرها، للطافرات المقاومة للعاثيات، وإكساب الصفات الموافقة عند الضرورة للتنوعات المقاومة للعاثيات.

أسئلة للمناقشة



- ما أهمية إجراء عمليات الاصطفاء والطفرات في التطبيقات الصناعية؟.
- أوضح مفهوم: الطفرات النقطية، والطفرات عديدة الموقع، والعزل.
- هناك طفرات تلقائية، أوضح تأثيرها في الأحياء الدقيقة الصناعية.
- عدد أهم الميزات التي يجب أن تتميز بها السلالة عند تحسينها.
- قارن بين مصادر العاثيات في تطبيقات الميكروبيولوجيا الصناعية.
- عدد أهم الإجراءات عند تحضير السلالات الأصلية للعمل الاصطفائي.
- ما أهم أساليب تحديد العاثيات الجرثومية، وكيف يمكن مكافحتها؟.

المراجع References random

- **أحمد، محمد علي – النواوي، محمد عبد الرزاق (1999).** الفطريات الصناعية. الدار العربية للنشر والتوزيع، مدينة نصر.
- **بريشة، جابر زايد – حماد، عادل محمود (2002).** أساسيات الميكروبيولوجيا الصناعية، الطبعة الأولى، الدار العربية للنشر والتوزيع، مدينة نصر، مصر.
- **علي نظام، عدنان – الأشقر، كمال (2007).** بيولوجيا الأحياء الدقيقة، الجزء النظري، منشورات جامعة دمشق، كلية العلوم، مديرية الكتب والمطبوعات.
- **نيكلين، جين J. Nicklin– غريم – كوك، ك – كيلينجتون، ر (2008).** مقدمة في علم الأحياء الدقيقة Instant Notes Microbiology، ترجمة الخليل، ع – عارف، إ – حسين، م، منشورات جامعة الملك سعود، النشر العلمي والمطابع، المملكة العربية السعودية.

- **Arkaldeva Z., Bezbaradov A., Blohina I. N. *et al.*** (1989). Industrial Microbiology, Moscow, High school.
- **Okafor N., (2007).** Modern industrial Microbiology and Biotechnology. Clemson University, Clemson South Carolina USA. Science Publishers.
- **Crop Biotech** August 26, 2005
- **Crop Biotech** April 29, 2005
- http://www.bioforge.net/

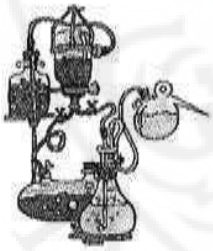
Damascus University

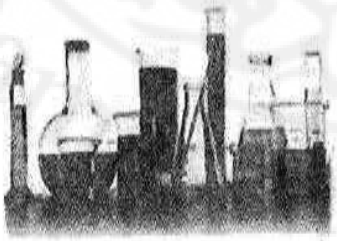
المخمرات والمفاعلات الحيوية

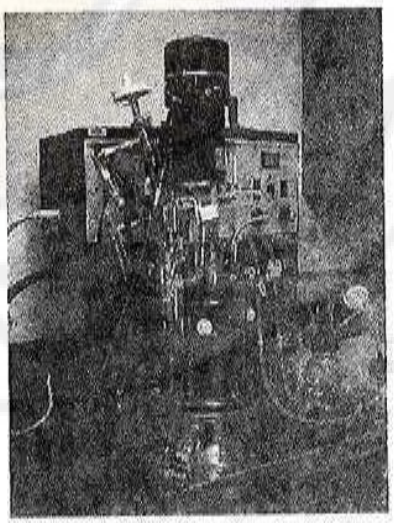
Fermenters and Bioreactors

يتوقع من المتعلم في نهاية الفصل أن يكون قادراً على أن:

- يحدّد مواصفات المخمّر.
- يعدد أقسام المخمر.
- يقارن بين النظم المغلقة والنظم المفتوحة للتخمر.
- يربط بين مكونات وحدة التخمر.
- يذكر بعض الأنواع المستعملة في الاستيقاف الخلوي.
- يدرك أهمية استيقاف الخلايا في الإنتاج الصناعي.
- يقدّر أهمية سلالات الأحياء الدقيقة لحل المشكلات الصناعية والبيئية.







مفاهيم مفتاحية

- **المخمرات Fomenters**

إناء أو حوض يؤمّن الظروف المناسبة لتحوّل المواد الخام إلى منتَجات طبيعية (كتلة حيوية، مستقلبات، منتَجات الحفظ الحيوي) بفعل مجمل الخلايا أو الإنزيمات الحرة، ويزود عادة بوسائل لمراقبة وضبط التفاعلات الجارية فيه.

- **الحفازات الحيوية Biocatalysts**

مواد كيميائية تنتجها الأحياء يمكنها زيادة معدلات التفاعلات الكيميائية من دون أن تتغير كيميائياً.

- **العمليات الحيوية Bioprocesses**

هي مجموعة من العمليات التي تجري ضمن الأحياء أو بفعل مادة حيوية أو ضمن منظومة صناعية بهدف الحصول على منتج معين.

- **استيقاف الخلايا Cell Immobilization**

إجراء يفيد في حمل الأحياء الدقيقة بطرائق مختلفة على حامل صلب، بهدف جعل الخلايا تعمل كوحدة حية على الحامل وتقوم الإنزيمات بفعلها.

- **الحفظ الحيوي Biopreservation**

هو طريقة لحفظ منتَج معين أو تركيب محدد باستعمال مادة يمكن الحصول عليها بفعل الأحياء أو الأحياء الدقيقة التي تمكّن من الحصول على كميات كافية خلال زمن قصير وفي أي وقت باستعمال مواد رخيصة الثمن.

- **المعلّق Suspension**

يصف وجود الأحياء الدقيقة والمغذيات الصلبة المعلّقة في المحلول، وإن كان يميل للترسيب مع الزمن.

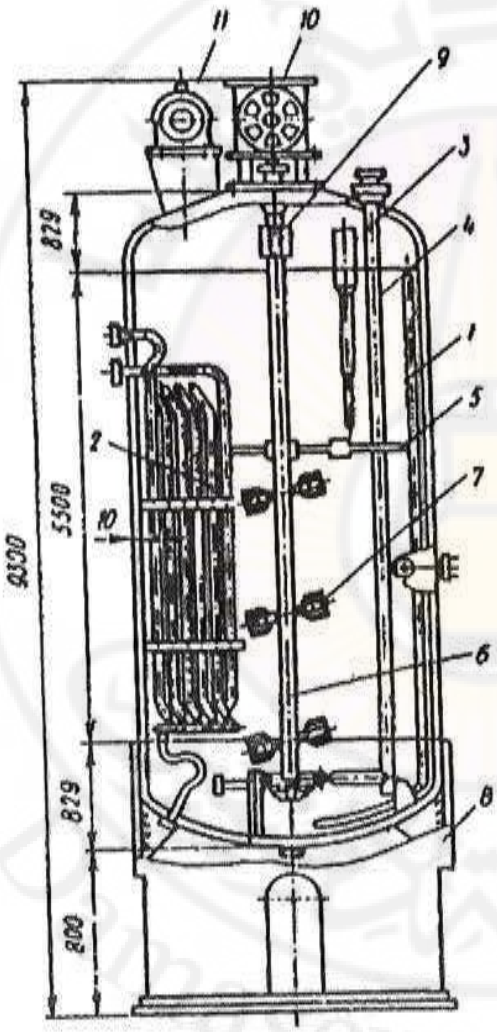
- **تصميم المخمرات Design of Fermenters**

هي الإجراءات المتخذة لتأمين الظروف المناسبة لحدوث عمليات حيوية تهدف إلى الإنتاج الصناعي وفقاً للسلالة أو طريقة الإنتاج أو المنتَج.

410 خصائص المخمرات Characteristics of Fermenters

411 أقسام المخمر Parts of Fermenter

تتباين أشكال المخمرات وأحجامها، وأغراضها، وإن كانت تتصف بمكونات أساسية لا بد منها، فهي عموماً تختلف فيما بينها بالمظهر والتركيب أو التعقيد، يوضح الشكل 4-1 الأقسام الأساسية للمخمر.



1. جسم الجهاز.
2. المبادل الحراري.
3. جُلبة المقياس الحراري (وصلة).
4. مضخة الهواء (المعقم والساخن).
5. شدّادات للحفاظ على تمركز العمود.
6. عمود الخلاط.
7. ريشة الخلاط.
8. منصة المخمر.
9. واصل ربط العمود.
10. محرك لتدوير الخلاط.
11. محرك.

الشكل 4-1 الأقسام الأساسية للمخمر.

412 صفات المخمرات Properties of Fermenters

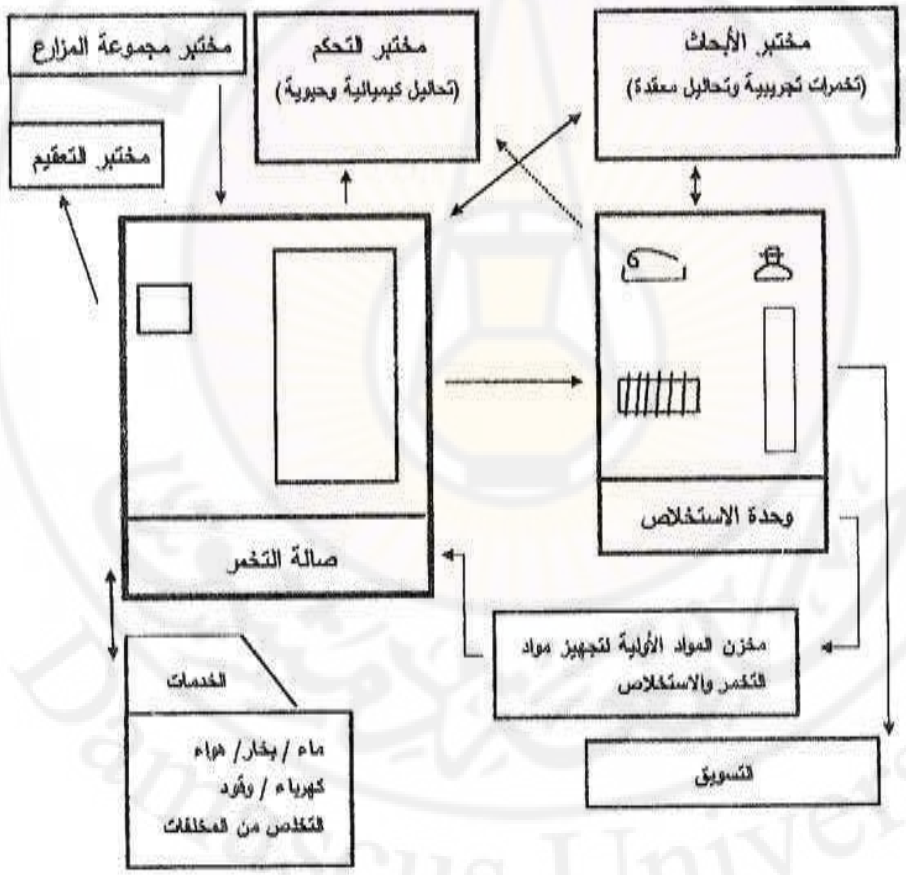
يجب أن تمتلك المخمرات جملة من الصفات تسمح باستعمالها في غرض الاختبار أو الصناعة، ولا بد للمخمرات الصناعية من امتلاك الصفات الآتية:

- ✓ الأوعية متينة لدرجة تتحمّل فيها الضغوط الكبيرة الناجمة عن الوسط السائل، ومصنوعة من مواد مقاومة للتآكل بفعل منتجات التخمر، وألا تحرر أي مواد سامة.
- ✓ قابلية التحريك وضبط نمو الأحياء الدقيقة الملوّثة أو منعها، والتحكم في درجة الحرارة وثباتها، وضبط رقم الهدرجين في الوسط، والتهوية العقيمة سواء بالمرشحات أم بوسائل تعقيم أخرى.
- ✓ إمكان إدخال الهواء المعقم إلى الوسط سريعاً، بحيث يذوب الأكسجين ويتيسر للأحياء الدقيقة في التفاعلات الهوائية، وأن يكون إبعاد ثنائي أكسيد الكربون الناتج سهلاً.
- ✓ استعمال وسائل مطهرة لإدخال اللقاح في بداية العملية وسحب العينات خلال عملية التخمر.
- ✓ وجود أحواض لقاح إضافية (مخمرات صغيرة) يُنتج فيها اللقاح الذي سيضاف مباشرة إلى المخمر دون استعمال أنابيب كثيرة، وأوعية أخرى لمزج مكونات الوسط والماء لإضافتها عند الضرورة.
- ✓ استعمال وسائل معينة لتعقيم وسط الإنتاج والمواد المانعة للرغوة Antifoam Agents، هذه المواد التي تضاف بشكل متقطع كلما دعت الحاجة.
- ✓ وجود فتحة تصريف في قاع المخمر لإزالة الوسط بعد انتهاء التخمر والتنظيف الجيد بين وجبات التخمر المتعاقبة.

420 مكونات وحدة التخمير Components of Fermentation Unit

يجب أن يكون تصميم وحدة التخمير قابلاً للتطبيق بغض النظر عن حجم عملية التخمر، ويوضح الشكل 4-2 مخططاً لوحدة تخمير تجريبية ضيقة النطاق، أو لمصنع صغير يؤمّن كميات تجريبية من مواد الاستقلاب، حتى لمصنع إنتاجي كبير.

وقد صممت المخمرات الصناعية لتهيئة الظروف الملائمة لاستزراع الأحياء الدقيقة المهمة اقتصادياً، وهي تسمح بالمعالجة السهلة للعمليات المرافقة لاستعمالات المخمرات جميعها.



الشكل 4-2 مخطط وحدة التخمير.

مختبر مجموع المزارع: يُحضّر فيه اللقاح المناسب من الجراثيم أو الفطريات لبدء العملية الميكروبيولوجية، وفيه يجري الفحص الميكروبيولوجي الروتيني الذي يرتبط بمدى كفاءة تعقيم أوساط التخمر.

مختبر التحكم

تُحضّر فيه أوساط التخمر وتُعقّم، ويتكفّل بمراقبة كل عملية التخمر [illegible] تقدير رقم الهدروجين، ونمو الجراثيم أو الفطريات لإعطاء صورة كاملة [illegible] عن مدى تقدم كل دورة من دورات التخمر.

التحليل الكيميائي أو الحيوي لعينات تؤخذ على فترات منتظمة لتقدير كمية المنتج النهائي، وبالنتيجة يمكن تحديد مرحلة التخمر التي تعطي أعلى كمية من المنتج المراد الحصول عليه.

مختبر الأبحاث: تُجرى فيه التجارب الميكروبيولوجية والكيميائية التي يؤدي إلى زيادة ناتج التخمر وتطوير عمليات الاستخلاص وزيادة كفاءتها، يومياً إجراء عمليات تخمر في الدوارق أو في مخمرات صغيرة 5 – 15 ل.

وحدة الاستخلاص

تتكفّل باستخلاص ناتج التخمر بالطريقة التي يوصي بها مختبر الأبحاث، ويعتمد ذلك على الخصائص الكيميائية للمنتج، ولذلك فقد تعدّل الطريقة المستعملة في الميكروبيولوجيا الصناعية لتلائم المنتج. ويجب أن تكون طريقة الاستخلاص غير مكلفة وسهلة التطبيق.

...

ماء لتحضير أوساط التخمر ولاستعماله في التحكم في درجة الحرارة.

هواء مضغوط ومعقم من أجل تهوية المخمرات.

بخار ماء عالي الضغط للتعقيم.

طاقة كهربائية كافية.

أسلوب مناسب للتخلص من المخلفات.

✦ الحجم Size

توجد المخمرات بأحجام مختلفة تحسب عادة على أساس السعة الحجمية الكلية للمخمر، بينما يكون حجم التشغيل الفعلي للمخمر أقل من الحجم الكلي بسبب الفراغ الرأسي المتكون في قمة المخمر فوق السائل؛ مما يسمح برش السائل Splashing وإرغائه Foaming وتهويته، ويحتل الفراغ الرأسي نحو خُمُس إلى رُبع حجم المخمر.

هنالك أنماط مختلفة من المخمرات، فمنها الصغير جداً ومنها الضخم، كالآتي:

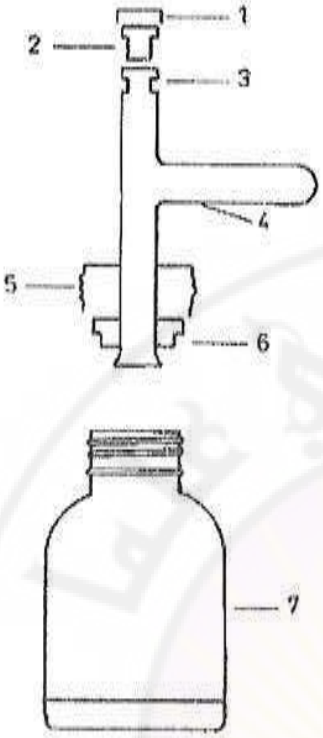
المخمرات	الحجم	موضع الاستعمال والغرض
الصغيرة	2 – 3 ل 1 ل أو 12 – 15 ل	في مختبرات أبحاث تطوير عمليات التخمر، قد تكون أوان صغيرة كالدوارق والقناني (الشكل 4–3). في حالات نادرة.
الدراسية	1 – 4 (75) هكتولتراً	في المصانع، لإجراء دراسات واسعة النطاق على التخمر.
الكبيرة	200 – 400 (4000) هـ.ل	في الإنتاج الصناعي لمنتجات التخمر أو لبعض الأحياء الدقيقة.
الضخمة	10 – 20 ألف هـ.ل	كروية الشكل، نادراً ما تستعمل.

وهنالك ثلاث مجموعات من المفاعلات المستعملة حالياً في الإنتاج الصناعي:

مخمرات لا تتطلّب التحريك والتهوية (الجعة والخمر)

مخمرات عديمة التحريك وهي مهواة (الكتلة الحيوية، كالبروتين)

مخمرات تتطلب التحريك والتهوية (الصادات الحيوية)



1. غطاء ألمنيوم.
2. سدادة.
3. أنبوب ألمنيوم مزود بشفة.
4. أنبوب ألمنيوم محكم الإغلاق.
5. قلووظ/ لولب ألمنيوم فوق غطاء القنينة.
6. سدادة مطاطية.
7. دورق بلاسما الدم.

الشكل 4-3 أداة مختبر لتنمية لاهوائية صارمة (Bhatnagar, Henriquet and Longin, 1983).

الهيئات الأساسية للمخمر Basic Fermenter Configuration

- ✓ يمكن معاينة تخمر الأحياء الدقيقة كمنظومة ثلاثية الأطوار، بما في ذلك: تفاعلات سائل – صلب، غاز – صلب، وغاز – سائل.
- ✓ يتضمن الطور السائل المغذيات المنحلة، والركازات المنحلة والمستقلبات المنحلة.
- ✓ يتركب الطور الصلب من خلايا مفردة، الكُريّات Pellets، الركازات غير المنحلة، أو المنتجات الاستقلابية المترسبة.
- ✓ يشترط الطور الغازي وجود خزان للإمداد بالأكسجين ومن أجل إزالة CO_2.

❖ معايير التصميم الأساسي للمخمر

Basic Fermenter Design Criteria

- ❖ طبيعة الخلية من الأحياء الدقيقة (من نسج الثدييات أو النباتات):
  1) الخصائص الهدروديناميكية.
  2) أسلوب نقل الكتلة والحرارة.
  3) الحركية Kinetics.
  4) النمط الوراثي، والنمط الظاهري.
- ❖ التحكم البيئي ورصد العملية:
  1) pH ودرجة الحرارة، والأكسجين المنحل و..
  2) التطهير Asepsis وتفادي التلوث.
- ❖ العوامل المؤثرة في العملية:
  1) التأثير في وحدة الأعمال الأخرى.
  2) الاقتصاديات.
  3) الإمكانات واحتمال ارتفاع الأسعار.

440 تصميم المخمرات Design of Fermenters

تهيئ المخمرات الظروف البيئية المناسبة لتحقيق عملية حيوية معينة؛ ولذلك يوجد منها نمطان اعتماداً على نمط عملية التخمر:

مخمرات التخمر الهوائي Fermenters for Aerobic Fermentation

تمرر كمية محددة من الهواء المعقم بطريقة الترشيح خلال صمام وحيد الاتجاه، إلى سائل التخمر في قاع المخمر، وينفث الهواء إلى الجو خارج المخمر خلال أنبوب طويل يجري تعقيمها دورياً أو تزود بمرشحة جرثومية.

مخمرات التخمر اللاهوائي Fermenters for Anaerobic Fermentation

هي نفسها المخمرات السابقة مع بعض الاختلاف بالتصميم كالتقليب والتهوية، ولكن بعض التخمرات اللاهوائية تحتاج إلى تقليب أولي للقاح خلال وسط التخمر، وإن كانت لا تحتاج إلى تقليب اضافي؛ لأن الغازات المتصاعدة في عملية التخمر تؤدي وظيفة التقليب، وتكون الحاجة إلى الهواء في بداية التخمر فقط لتكوين مجموع خلوي كبير قبل أن تصبح الظروف لاهوائية، ولكن الأكسجين يوجد في الفراغ الرأسي، يحتاجه بعض الجراثيم النفة قلة الأكسجين Microaerophillic، ولا تحتاج أفراد الجنس *Clostridium* الأكسجين فهي غير قادرة على تحمله، وعندئذ تستعمل مادة هلامية سميكة لمنع تغلغله في الوسط.

يُضاف اللقاح من أسفل المخمر مباشرة عند تبريد الوسط إلى الدرجة الملائمة قبل أن يتمكن الأكسجين من التغلغل فيه، ثم تتبدد الغازات المنطلقة (CO_2، وH_2) التي لها ذات أهمية اقتصادية كبيرة، ولذلك يجب جمعها.

ويمكن أن يكون التخمر في جملة مغلقة أو مفتوحة، كالآتي:

النظم المغلقة للتخمر Closed Fermentation Systems

تتضمن النظم المغلقة المغذيات التي أُضيفت في بداية عملية التخمر واللقح، وكنتيجة فإن معدل نمو الأحياء الدقيقة المستعملة يتراجع إلى الصفر في آخر الأمر، إما لنضوب المغذيات أو لتراكم منتجات المخلفات السامة.

ويكون تعديل العملية في منظومة الدفعة المغذاة Fed Batch System بإضافة أحجام من المغذيات لمنع نضوبها، تبقى المنظومة مع ذلك مغلقة عموماً، إذ لا يوجد أي تدفق مستمر.

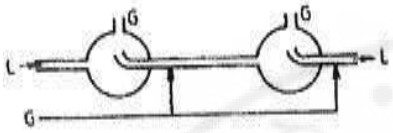
النظم المفتوحة للتخمر Open Fermentation Systems

على عكس الأنماط السابقة، في النظم المفتوحة يمكن إضافة الأحياء والمغذيات وإخراجها من المخمر باستمرار.

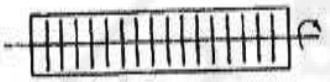
ويوضح الشكل 4-4 المفاعلات الأنبوبية الأفقية.



أنبوب Pipe عادي



مع المغوّز Gasifier



الأقراص الحيوية Biodiscs

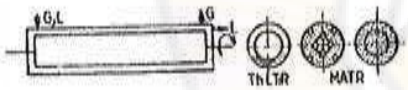


ريشات عديدة Multiple Blade MBHR
(horizontal reactor)

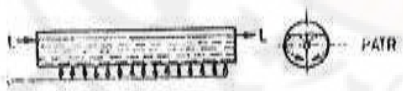


المفاعل الدوار الأفقي
Horizontal Rotary Reactor HRR

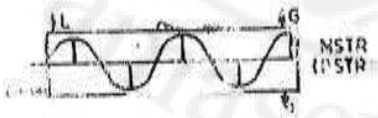
مفاعل أنبوبي رقيق الطبقة ThLTR
(thin – layer tubular reactor)



ومفاعل أنبوبي يعمل بالتحريك والتهوية
الآلية MATR
and mechanically agitated and aerated)
(tubular reactor



مفاعل أنبوبي مهوى بالهواء المضغوط
PATR
(pneumatically aerated & agitated)



مفاعل أنبوبي للكشط الآلي MSTR
(mechanically Scraped tubular reactor)
أو الهوائي PSTR
(pneumatically)

الشكل 4–4 بعض أشكال المفاعلات الأنبوبية الأفقية (Mo[illegible]RES).

450 التهوية والاهتزاز Aeration and Agitation

يجب تحقيق نقل الطاقة والمغذيات والمستقلب بأداة مزج مناسبة ضمن المفاعل الحيوي، ففعالية أي مادة مغذية قد تكون حاسمة لفعالية أي تخمر.

يعتمد أداء المفاعل على طريق توزيع الهواء في المحلول المغذي، ومجانسة درجة الحرارة وتركيز المغذيات ضمن المخمر، وتعلّق الأحياء الدقيقة والمغذيات الصلبة، وتوزع السوائل غير القابلة للامتزاج.

يعمل الهز على تأمين مزج جيد؛ وبالتالي زيادة معدل نقل الكتلة خلال السائل بمجمله و"حدود" الطبقات في الوسط والنمو، وتأمين الظروف المناسبة المطلوبة لتحطيم الفقاعات، ويفيد في ذلك هزّاز وريشات، وتُستعمل الريشات لدفع تدفق السائل لزيادة الاضطراب وفعالية المزج، ويكون نقل الكتلة بتدبير ملائم لتبادل الغاز أحد العوامل المهمة، فالأكسجين أساسي للاستقلاب، وثنائي أكسيد الكربون أساسي لمنتج الاستقلاب، وهنالك إجراءات وتدابير مختلفة لتحقيق عملية تكيف الأحياء الدقيقة، والتعقيم Sterilization تدبير مهم لنجاح عملية التخمر الصناعي، ويعني التخمر المعقم استعمال وسط يحتوي نوعاً مرغوباً فيه فقط من الأحياء الدقيقة، ولكن الوسط المعقم يعني خلوه من الأحياء الدقيقة.

يجري التعقيم بطرائق عديدة، وتتوقف الطريقة المستعملة على تركيب الناتج المرغوب فيه ونوع الأحياء الدقيقة وطبيعة الوسط الغذائي، وعوامل أخرى.

من الطرائق الفيزيائية للتعقيم: الحرارة Heat – البسترة Pasteurization، والتعقيم البخاري Autoclaving والتعقيم المتقطع Tyndalization، والترشيح Filtration، والتشعيع Irradiation.

ومن الطرائق الكيميائية للتعقيم: الحموض والقلويات، والغولات Alcohols، والفينول ومشتقاته، واليود، والكلور ومركباته، والمعادن الثقيلة ومركباتها، والصابون والمركبات الخافضة للتوتر السطحي، والفورمالدهيد Formaldehyde، والصادات Antibiotics.

460 استيقاف الخلايا Cell Immobilization CI

تتضمن تقانات الإنزيمات كيفية استعمال الإنزيمات، والطريقة الأكثر بساطة لاستعمالها تكون بإضافتها إلى مجرى العملية حيث تحفز التفاعل المرغوب فيه وتتعرض للتعطيل تدريجياً خلال العملية، الطريق البديل لاستعمال الإنزيمات يكون باستيقافها، وبذلك يمكن إعادة استعمالها، إحدى طرائق الاستيقاف تكون باستعمال أغشية الترشيح الفائق Ultrafiltration Membranes في جملة المفاعل. تكون إحدى طرائق الاستيقاف باستعمال المفاعل، فالجزيئات الضخمة للإنزيمات لا تتمكن من عبور الغشاء على عكس منتجات التفاعل الجزيئي، لذلك فالإنزيمات تبقى محتجزة في جملة التفاعل وتغادر المنتجات الجملة باستمرار.

يكون التركيب والتفكيك والتحول الجزئي للمركبات المختلفة في الجمل الحيوية عرضة للتحفيز بالإنزيمات، وهي البروتينات الكروية المنحلة بالماء، ويظهر النشاط التحفيزي للإنزيمات في بُناها الثالثية والرابعية، فالإنزيمات جميعها تمتلك موقعاً فريداً ومتخصصاً للارتباط بجزيئات مادة التفاعل.

لذلك فاستيقاف Immobilization الحفازات الحيوية Biocatalysts يتضمن الإنزيمات والعُضَيّات الخلوية، وخلايا الأحياء الدقيقة، والخلايا النباتية، والخلايا الحيوانية، وقد جذب اهتماماً واسعاً في التطبيق العملي للعمليات الحيوية Bioprocesses، وعموماً تكون الحفازات المستوقفة ثابتة وسهلة التعامل مقارنة بنظائرها الحرة، ويمكن استعمالها مراراً في سلسلة زمنية طويلة من تفاعلات طريقة الدفعة الواحدة أو باستمرار في جمل التدفق، وتتضمن تطبيقاتها الآتي:

إنتاج مركبات مفيدة بوساطة التحويل الحيوي Bioconversion، وإنتاج الطاقة بوساطة العمليات الحيوية، واختيار معالجة الملوثات النوعية لحل المشكلات البيئية، والتحليل المستمر لمركبات مختلفة ذات حساسية عالية ونوعية عالية، والاستعمالات الطبية كالأنماط الجديدة من العقاقير من أجل المعالجة الإنزيمية Enzyme Therapy أو الأعضاء الصنعية Artificial Organs.

تتطلب هذه العمليات استيقاف إنزيمات عديدة مختلفة، وعُضيات Organelles، أو خلايا يمكنها تحفيز تفاعلات معقدة أكثر.

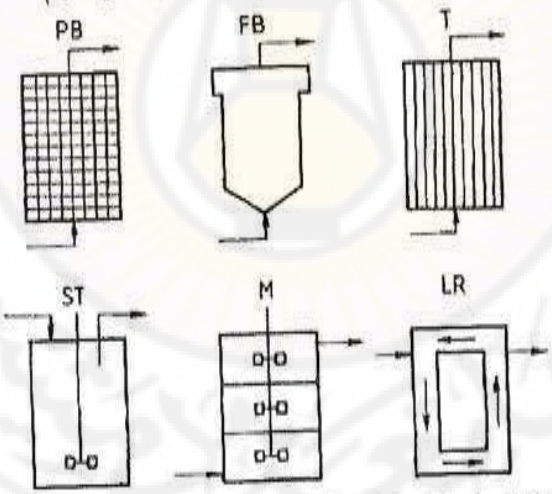
يمكن تعريف الإنزيمات المستوقفة كإنزيمات محتجزة Confined أو مُوضَّعة Localized في مناطق معينة عديدة من الفراغ مع استبقاء أنشطةاتها التحفيزية، ويمكن استعمالها مرة تلو الأخرى باستمرار (Chibata 1978)، وهذا التعريف قابل للتطبيق على الإنزيمات، والعُضيات الخلوية، وخلايا الأحياء الدقيقة، والخلايا النباتية، والخلايا الحيوانية، وهي لأنماط الحفازات الحيوية جميعها (الجدول 4-1).

الجدول 4--1 بعض إنزيمات الأحياء الدقيقة الصناعية المهمة المستعملة في الاستيقاف.

الإنزيم	المصدر	المنتج/ الدور
Aminoacylase	*Aspergillus oryzae*	L – حموض أمينية
Amyloglucosidase (glcoamylase)	*Aspergillus niger* *Rhizopus niveus*	إنتاج الغلوكوز من النشاء
Glucose isomerase	*Actinomyces missouriensis* *Bacillus coagulans*	سيروب الذرة عالي الفركتوز
Hydantoinase	*Flavobacteium ammonigenes*	D- و L- حموض أمينية
Invertase	*Saccharomyces cerevisiae* *Aspergillus niger*	سكر منقلب (غلوكوز +فركتوز)
Lactase (ß-galactosidase)	*Aspergillus oryzae* *Kluyveromyces fragilis*	حليب ومصل اللبن (الشرش) خال من اللاكتوز
Lipase	*Rhizopus arrbizus*	بديل زبدة الكاكاو
Naringinase (hesperidinase)	*Penicillium decumbens*	إزالة مرارة عصير ثمار البرتقال
Nitrile hydratase	*Rhodococcus rhodochrous*	أكريل أميد
Penicillin acylase (penicillin amidase)	*Escherichia coli* *Bacillus subtilis*	انقسام السلسلة الجانبية للبنسلين
Melibiase (raffinase) (α-galactosidase)	*Aspergillus niger* *Saccharomyces cerevisiae*	إزالة الرافينوز من خلاصات الشوندر السكري
Thermolysin (a zinc protease)	*Bacillus thermoproteolyticus*	أسبرتام (L- أسبرتيل-L – فينيل ألانين ميتيل إستر) محلي منخفض الطاقة

ولكي ننجح في تطبيق الحفازات الحيوية المستوقفة، فإن غربلتها من أجل النشاط المرغوب فيه وخصائصها تكون مسألة أكثر أهمية؛ إضافة إلى أن اصطفاء التركيب المناسب من المادة الداعمة وطريقة الاستيقاف من الضروري أن تكون مناسبةً لكل حفاز حيوي، ولا يوجد مفهوم تصنيفيّ متاحاً اليوم لتصميم طريقة أكثر ملاءمة للاستيقاف من أجل الحفازات الحيوية المتنوعة؛ لذلك فالأمثلة تُنجز عموماً على مبدأ التجريب والخطأ، وهنالك تقنيات استيقاف متنوعة متاحة، ولكل طريقة مزاياها وعيوبها، ويجب أن يعتمد الاصطفاء على الغرض المطلوب، متضمناً نمط الحفاز الحيوي، وأسلوب التفاعل، وتصميم المفاعل (الشكل 4-5).

ويجب أن يمتلك المفاعل زمراً وظيفية وافية لاستيقاف الحفاز الحيوي، وتعزيزاً آلياً وافياً؛ وثباتية فيزيائية وكيميائية وحيوية، وأن يكون عديم السمية، ويكون المظهر السهل أيضاً مهماً من أجل تطبيق الحفازات الحيوية للأنماط المختلفة من المفاعلات، وفوق ذلك، فإن الكلفة المقبولة اقتصادياً أمر مهم.



السرير المحزوم PB – Packed Bed، السرير المسيّل FB – Fluidized Bed، الأنبوبي T Tubular –، المزج ST – Stirred، عديد الأطوار M – Multistage، إعادة التدوير المقفلة LR – Loop Recycle.

الشكل 4-5 المفاعلات الحيوية لاستيقاف الخلايا (Sikyta 1995).

حدث تطور كبير في استعمال الإنزيمات في مجالات الصناعة والتحاليل وفي الأغراض الطبية؛ مما أدى إلى ظهور حقل جديد في مجال العلوم يدعى التقانات الإنزيمية Enzyme Technology، وعلى الرغم من أن الأحياء جميعها تنتج الإنزيمات إلا أن الإنزيمات التي تنتجها الأحياء الدقيقة هي المفضلة في الأغراض الصناعية للأسباب الآتية:

- ✓ انخفاض تكاليف الإنتاج.
- ✓ عدم ارتباط ظروف الإنتاج بزمان معين أو مكان محدد.
- ✓ إمكان إجراء الإنتاج (الضخم) في وقت قصير.
- ✓ سهولة التحوير الوراثي للسلالات الصناعية.

تُستوقف الإنزيمات المنتجة على حوامل صلبة لزيادة كفاءتها؛ ولتسهيل نقلها وتخزينها، وهذه العملية تدعى استيقاف الإنزيمات Enzyme Immobilization، ولكن هناك مشكلات كثيرة لا يمكن حلها عن طريق تقانة الإنزيمات هذه، وأهمها:

وجود الإنزيمات في نمطين:

- ✓ الإنزيمات الخارجية: تفرزها الأحياء الدقيقة خارج الخلية في وسط النمو.
- ✓ الإنزيمات الداخلية: تظل محتجزة داخل الخلية، وتتطلّب عملية استيقافها إجراءات مهمة كالاستخلاص والتنقية أولاً، وتكون هذه الإنزيمات المستخلصة غير ثابتة وغير مناسبة من الناحية العملية في أغلب الأحيان، كما أن عمليات الاستخلاص والتنقية مكلفة وغير اقتصادية.

فما الحلّ؟.

إن حل هذه المشكلة يكون باستيقاف الخلية ككل، وهو ما دفع إلى نشوء الاستيقاف الخلوي Cell Immobilization؛ لذلك يفضل في كثير من التطبيقات الصناعية تثبيت خلايا الأحياء الدقيقة ذاتها على حوامل صلبة لتلافي مشكلات استيقاف الإنزيمات النقية، وعلى أي حال فالخلايا المستوقفة في التفاعلات الإنزيمية تصبح ضرورية في الحالات الآتية:

- عندما تكون الإنزيمات داخلية.
- عندما تكون الإنزيمات غير ثابتة، أي لا يمكن استعمالها في الصورة المستوقفة؛ لأن نشاطها يتغير في العملية على المادة المطلوبة.
- عندما يمكن التحكم في الخلايا لجعلها لا تنشط في إفراز إنزيمات أخرى غير المرغوب فيها.
- عندما تكون المواد الأولية وكذلك نواتج التخمر مركبات ذات كتلة جزيئية منخفضة.

وعلى ذلك، فإن وجود الظروف السابقة تجعل الخلايا المستوقفة بمواد صلبة تتصف بالخصائص الآتية:

- ✓ إنتاج الإنزيمات عالٍ جداً.
- ✓ ثباتية النشاط الخلوي عالية جداً.
- ✓ تكاليف إنتاج الإنزيمات منخفضة.
- ✓ يمكن استعمالها في العمليات ذات النمط عديد الإنزيمات.
- ✓ يمكن الاستغناء عن عمليات استخلاص الإنزيمات أو تنقيتها.
- ✓ حجم وسط التخمّر أصغر بكثير منه في حال الخلايا الحرة، فالخلايا المستوقفة يمكن أن تنشط في تركيز عالٍ جداً من المادة الأولية مقارنة بالخلايا الحرة، مما يحتّم خفض فرصة التلوث ويقلل كلفة الإنتاج.

- في **إنتاج الإيتانول:** يُنتج كل 1 غ/ سكر ½ غ غول تقريباً نظرياً، فزيادة تركيز السكر تقلل كلفة الإنتاج، ولكن الأحياء الدقيقة المستعملة لا يمكنها البقاء في تركيز عال من السكر، الحلّ: إجراء التلقيح بأحياء دقيقة مستوقفة على مواد صلبة، وبهذه الطريقة يمكنها تحمّل تركيز سكر قد يصل إلى 40 أو 45%.

- في **محطات معالجة المخلفات** السائلة المنزلية: تطورت في السنوات الأخيرة طرائق ربط الخلايا بمواد تزيد فاعليتها، ومع ذلك لا توجد طريقة واحدة حتى الآن يمكن تعميمها على أنواع خلايا الأحياء الدقيقة جميعها.

461 الامتزاز Adsorption

يعتمد ذلك على الربط المباشر للخلايا على حوامل صلبة خاملة بوساطة قوى جاذبة ضعيفة، باستعمال المبادلات الأيونية والسليكا وبعض المواد السليكونية والكولاجين والكيتين (الشكل 4-6).

ومن أهم المواد الحاملة:

- ✓ عديدات السكر: السليلوز والدكستران والأغاروز.
- ✓ البروتينات: الهلام والألبومين.
- ✓ المواد الصنعية: الراتنج والبوليفينيل كلوريد.
- ✓ المواد اللاعضوية: الرمل والزجاج.

ويعتمد الامتزاز الخلوي في المقام الأول على التأثرات الكهربائية الساكنة، وعلى الروابط الأيونية والهدروجينية بين سطح الخلية والمادة الحاملة.

أما الارتباط الكيميائي؛ فهو ارتباط الخلايا مباشرة على الحامل؛ ولذلك يُجرى تعديل كيميائي على سطح الحامل؛ فينشط، ويرتبط بالزمر على سطح الخلية، مثل: مجموعة الكربوكسيل أو الهدروكسيل.



الإنزيمات ---- القوى الكهربائية ~~ الحامل Matrix

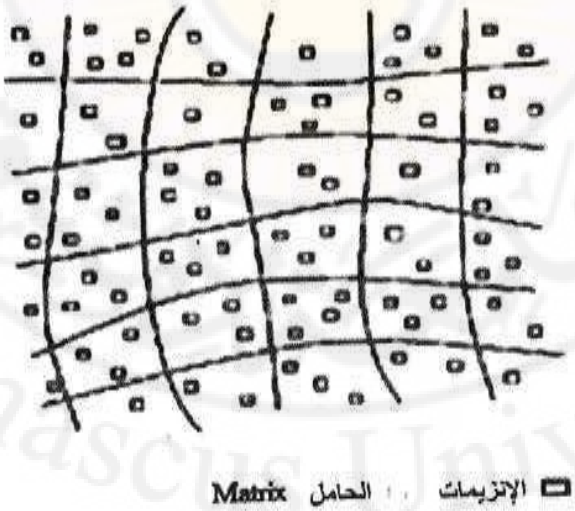
الشكل 4-6 استيقاف الإنزيمات بتقنية الامتزاز Adsorption.

462 الاقتناص Entrapment

يمكن اصطياد الخلايا ضمن مادة صناعية نسيجية، مثل:

- ✓ البولي أكريل أميد Poly acrylamide gel .
- ✓ الكاراغينان K-Carrageenan المستخرجة من الطحالب البحرية.
- ✓ ألجينات الكلسيوم Calcium alginate المستخرجة من الطحالب البحرية.
- ✓ الأغار – آغار Agar Agar.
- ✓ الكولاجين Collagen
- ✓ الكيتوزان Chitosan
- ✓ الهلام Gel

للخلايا المستوقفة قدرة فائقة على تحمّل ظروف التفاعل غير المناسبة، ولها نشاط عالٍ مقارنة بالخلايا الحرة؛ ولذلك أمكن تطبيقها في كثير من المجالات، ومن المتوقع أن تُطبّق نظم الخلايا المستوقفة مستقبلاً في كل مجالات التخمر باستعمال الأحياء الدقيقة(الشكل 4-7)، وطريقة اصطياد الخلايا داخل مادة هلامية هي أكثر الطرائق التي طُبّقت في مجالات التقانات الحيوية.



الشكل 4-7 استيقاف الإنزيمات بتقنية الاقتناص Entrapment.

463 التغليف Encapsulation

لطالما أن الجزيئات لا يمكنها العبور خلال الأغشية شبه الناقلة، والمركبات الكيميائية، والمنتَجات يمكنها ذلك اعتماداً على الحجم الأصغر (الشكل 4-8)، فالمواد، مثل: نترات السليلوز والنيلون، يمكن استعمالها لتركيب محافظ Capsules صغرية قطرها 10 – 100 ميكرون.

وتسمى عملية التغليف هذه تكوين المحفظة أيضاً؛ إضافة إلى أن الخلايا الحيوية، مثل: كريات الدم الحمراء، ويمكن استعمالها كمحافظ أيضاً.



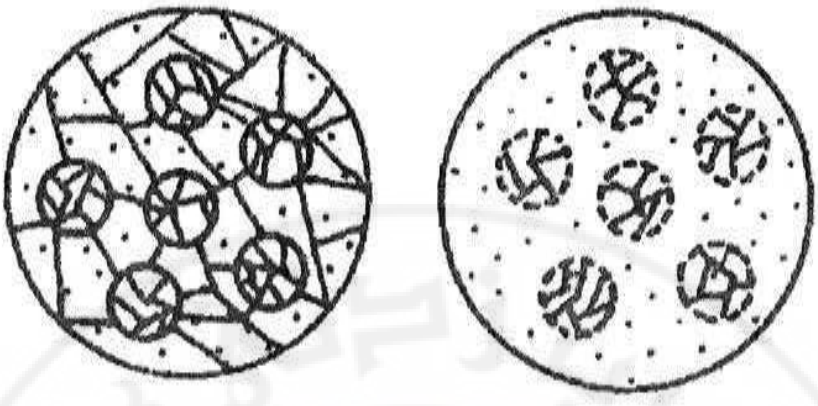
■ الإنزيمات ○ الحامل Matrix

الشكل 4-8 استيقاف الإنزيمات بتقنية التغليف Encapsulation.

464 الارتباط التصالبي Cross-linking Bond

يمكن تثبيت الخلايا عن طريق مزجها مع بعض المحاليل ثنائية الوظائف أو عديدة الوظائف، مثل: كاشف الغلوتار ألدهيد، وكاشف دي إيزوسيانات التولوين Toluen diisocyanate (الشكل 4-9).

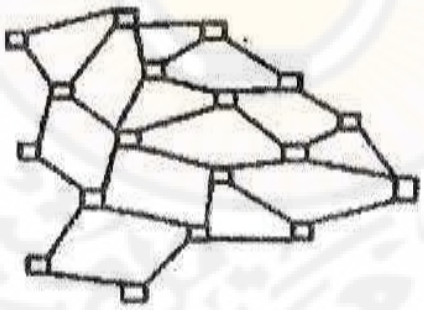
يكون ناتج النشاط الإنزيمي منخفضاً عادة بسبب خمول الخلايا، وربما يمكن تحسين هذه الطريقة مستقبلاً.



الشكل 4-9 استيقاف الإنزيمات بتقنية الارتباط التصالبي Cross-linking.

465 الارتباط التساهمي Covalent Bond

تتميز طريقة الارتباط التساهمي بثبات واستمرار التأثر بين الإنزيمات والحامل (الشكل 4-10).



الشكل 4-10 استيقاف الإنزيمات بتقنية الارتباط التساهمي.

- إنتاج الغول

يمكن تنشيط الأحياء الدقيقة في ظروف صعبة، مثل ارتفاع تركيز السكر في المادة الأولية، أو الملوحة الزائدة، أو زيادة تركيز الغول المنتج.

ورغم أن ألجينات الكلسيوم والكاراغينان مواد أكثر استعمالاً في استيقاف الخلايا لإنتاج الغول إلا أن هذه المواد لا تكون ثابتة في بعض الأوساط.

ففي وسط الشرش المملح تكون الكريات غير ثابتة، ويمكن استعمال مكعبات من الآغار بدلاً منها في إنتاج الغول، وأثبتت كفاءة عالية.

- إنتاج حمض الستريك

وجد أن نمو عفن *Aspergillus niger* ونشاطه الحيوي المسؤول عن إنتاج حمض الستريك يتأثران تأثراً عكسياً بأي تغيير كيميائي في الوسط، أو ببعض الخواص الفيزيائية، مثل: عملية الرج، وغيرها.

ويكون الحل باستعمال أفطورة الفطر المحمول على حامل الألجينات فهذه تحمي الفطر من التأثيرات السابقة.

- إنتاج حمض اللاكتيك

تستعمل بادئات للأحياء الدقيقة، حيث تُحفظ هذه البادئات في صورة مجفدة، وعند إعادة استعمالها فإنها تستغرق وقتاً طويلاً حتى تنمو، ثم تبين أن الحل يكون باستيقاف الخلايا على حامل صلب قبل عملية التجفيد. وقد استعمل هذا النظام بكفاءة عالية جداً في إنتاج حمض اللاكتيك بوساطة التخمير المستمر.

- تلقيح التربة بالأحياء الدقيقة

تلقح الأحياء الدقيقة بالطرائق العادية المعروفة، ولكن تبيّن أنّ التلقيح بهذه الطرائق لا يكون ناجحاً بسبب فقدان الأحياء الدقيقة لحيويتها بعد إضافتها إلى التربة.

والحل باستعمال الخلايا المستوقفة كلقاح للتربة. وقد تبيّن أن المادة الهلامية تحمي الأحياء الدقيقة من ظروف التربة الصعبة مدة طويلة.

وهذه الطريقة تجعل الأحياء الدقيقة قادرة على الوصول إلى سطح جذور النباتات وتكوين مستعمرات عليها ويكون انطلاق الأحياء الدقيقة بطيئاً عند تحلل كرات الهلام في التربة.

وقد تبيّن أنّ الأحياء الدقيقة المهندسة وراثياً تفقد الصفات المنقولة إليها عندما تضاف إلى التربة بالطريقة العادية.

استعملت تقانة الخلايا المستوقفة في إضافة الأحياء الدقيقة المهندسة وراثياً إلى التربة، منذ عام 1991.

- معالجة الزيوت

أُجري إدخال بعض الزيوت النباتية، مثل: زيت الزيتون وزيت الذرة وزيت دوار الشمس على نظام الاستيقاف الخلوي لتطوير طرائق تخمرات الأحياء الدقيقة؛ مما يفيد في جعل الخلايا مقاومة للمواد المعالجة.

وأمكن استعمال هذه المواد السامة في تعقيم الأوساط كبديل للحرارة مع استعمال هذا النظام كلقاح لا يتأثر بوجود هذه المواد السامة.

- معالجة المخلفات السائلة

تبيّن أنّها تعمل بكفاءة عالية جداً في إزالة المواد العضوية والنترات والأمونيا والنتريت والفُسفات والمذيبات المختلفة والحموض العضوية من المخلفات السائلة.

- المعالجة اللاهوائية لإنتاج الغاز الحيوي

استعملت الأحياء الدقيقة المستوقفة لإنتاج الميتان من مخلفات الصرف الصحي، وتبيّن أنّ الأحياء الدقيقة في هذه الصورة أحدثت توازناً بين مراحل إنتاج الغاز بحيث لا تطغى مرحلة إنتاج الحمض على مرحلة إنتاج الغاز.

واستعمل هذا النظام بكفاءة عالية في إزالة النترات من المخلفات السائلة عن طريق عملية نزع النتروجين.

المُشكِلَة في استعمال الأحياء الدقيقة المستوقفة في مادة هلامية، وفي معالجة المخلفات السائلة هو تعرض كريات الهلام للتحلل بعد فترة؛ مما يجعلها لا تصلح في إزالة المواد الضارة بطريقة التخمر المستمر.

ولذلك تبيّن أنّ نظام الخلايا المستوقفة في مادة هلامية، غير عملي لمعالجة المخلفات السائلة واستبدل بنوع آخر من الخلايا المستوقفة.

تُستعمل هذه الطريقة لإنتاج أو تحويل مركبات متنوعة، مثل:

- ✓ الحموض الأمينية.
- ✓ البيتيدات.
- ✓ الإنزيمات.
- ✓ السكريات.
- ✓ الحموض العضوية.
- ✓ الصادات الحيوية.
- ✓ الستيرويدات.
- ✓ النكليوزيدات Nucleosides.
- ✓ النكليوتيدات Nucleotides.
- ✓ الشحوم.
- ✓ التربينويدات.
- ✓ الوقود.
- ✓ أو المواد الكيميائية التجارية.

أسئلة للمناقشة



- ما أهمية وحدة التخمير؟.
- أوضح مفهوم: الاستيقاف الخلوي، النظم المفتوحة للتخمر.
- أوضح بالرسم مكونات وحدة التخمير وارتباطاتها.
- اذكر بعض أنواع الأحياء الدقيقة المفيدة في الاستيقاف الخلوي.
- قارن بين إنزيمات الأحياء الدقيقة والأحياء الأخرى.
- عدد الأقسام الرئيسة للمخمر.
- ما المواصفات التي يتميز بها المخمر، وما أهميتها؟.

المراجع References

- **أحمد، محمد علي - النواوي، محمد عبد الرزاق (1999).** الفطريات الصناعية. الدار العربية للنشر والتوزيع، مدينة نصر.

- **Bhatnagar L., Henriquet M., Longin R., (1983).** Enzymes in Industry. Edited by Wolfgang Copyright c 2007 Wiley-Vach Verlag Gmbh & Co. KGaA, Wenheim. ISBN: 978-527-31689-2, Biotechnol. Lett. 5. 39.
- **Chibata (ed.). (1978).** Immobilized enzymes, Research and development, Kodansha, Tokyo.

- **Chibata T., Tosa T., Sato T., Mori T., (1972)**. Proc. IVth Int. Ferment. Symp., "Fermentation Technology Today," Soc. Ferment. Technology., Technol., Japan 1972, p. 383.
- **Mitz M., (1956)**. Science 123 (1956). 1076
- **Moser, (1985)**. Imperfectly mixed bioreactor systems. In: Comprehensive Biotechnology 2, New York.
- **Quiocho F., Richards F., (1964)**. Proc. Natl. Acad. Sci. 52 (1964). 833.
- **Okafor N., (2007)**. Modern industrial Microbiology and Biotechnology. Clemson University, Clemson South Carolina USA. Science Publishers.
- **Sikyta B., (1995)**. Progress in Industrial Microbiology. Vol.31, Charles University, Hardec Kralove, Czech Republic. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo.
- **Tewari R., (2007)**. Food and Industrial Microbiology, Industrial Microbiology, Panjab University, Sector 14, Chandigarh – 160 014, 28 Sep. 2006, Revised 28 Nov. 2007.

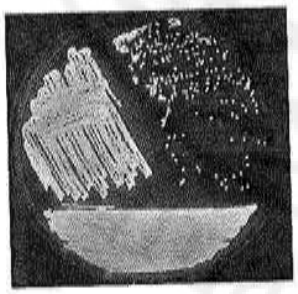
Damascus University

التقنيات الميكروبيولوجية للإنتاج الصناعي

Microbiological Techniques for Industrial Production

يتوقع من المتعلم في نهاية الفصل أن يكون قادراً على أن:

- يحدّد عدداً من المصادر الطبيعية لاستزراع الأحياء الدقيقة الصناعية.
- يسلسل مراحل تحضير اللقح.
- يقارن بين أنماط التخمر وأنماط المزارع الصناعية.
- يربط بين إنتاج المواد المفيدة وتركيب الأوساط الخام والمواد الإضافية.
- يحدّد خواص مضادات الرغوة.
- يذكر أهم طرائق حفظ المزارع.
- يقدّر أهمية استعمال المخلفات الزراعية في الصناعات الميكروبيولوجية.







مفاهيم مفتاحية

□ **الأوساط الطبيعية Natural Media**

مواد خام متوافرة ورخيصة الثمن تفيد في تنمية الأحياء الدقيقة وتزويدها بالمغذيات كالنتروجين والكربون، والمخلفات الزراعية، ومخلفات صناعة الفواكه والخضار، وصناعة الألبان، وصناعة المولاس، وصناعة الزيوت النباتية.

□ **المواد الإضافية Supplemental substances**

كثيراً ما تستأثر بأهمية مميزة في تحقيق غرض التطبيقات الصناعية للأحياء الدقيقة، مثل: العناصر النادرة، وعوامل النمو، والأسلاف، ومانعات الرغوة.

□ **اللَقّح Inoculum**

كمية معيّنة من سلالة لأحد الأحياء الدقيقة معروفة الخصائص، تضاف إلى حجم معيّن من وسط غذائي، بهدف تعزيز قدرته على إنتاج مادة مفيدة.

□ **الهرمونات Hormones**

مواد نشطة حيوياً، ينتجها الجسم في جزء منه، وتجول بالدم إلى جزء آخر حيث تحدث فيه تأثيراتها.

□ **الرغوة Foam**

تتكون الرغوة في أثناء تهوية الأوساط السائلة وتقليبها، ولاسيما عند استعمال الأوساط ذات المستوى العالي من البروتين، وهي وسيلة تقلل التهوية.

□ **الأسلاف Precursors**

مواد تندمج مباشرة مع جزيئات المنتَجات، وتكون مهمة على نحو خاص لإنتاج المستقْلبات الثانوية.

□ **الوسائل المانعة للرغوة Antifoam Agents**

يمكن التحكم في كمية الرغوة المتكونة في عمليات التصنيع الميكروبيولوجي باستعمال مواد مختلفة، مثل أنواع من المواد اللاعضوية: كالسليكون، أو المواد العضوية: كزيت الذرة.

510 أوساط الاستزراع Cultivation Media

511 اختيار أوساط الاستزراع Choose of Cultivation Media

تعد أنواع المواد الغذائية وكمياتها من العوامل المحدّدة والمهمّة لنجاح عملية التخمر الصناعي، فالوسط الغذائي يزوّد الأحياء الدقيقة بالمواد الغذائية اللازمة لنموها وبالطاقة، كالمصادر الكربونية والنتروجينية والأملاح المعدنية والفيتامينات والماء والأكسجين وغيرها، وكذلك الأسلاف اللازمة لتركيب مواد نوعية، فالوسط الفقير يؤدي إلى تغيير أنماط المواد ونسبها التي يمكن للسلالة أن تنتجها، وإذا كان الاختيار غير موفق فنمو السلالة يكون محدوداً، وتكون منتجات العملية قليلة، ومن أجل اختيار الوسط الغذائي المناسب يجب الأخذ في الحسبان الآتي:

1. الكلفة وسهولة تقييس المكونات الفردية.
2. النسبة المئوية لتركيب المادة الأولية الخام، ولاسيما المادة الغنية بالنتروجين والكربون.
3. صلة مكونات الوسط بنوع المنتَج، فمادام الفيتامين B_{12} يحتوي الكوبالت؛ لذلك لا بد من تقديمه في الوسط الغذائي.
4. تحديد مكونات الوسط وفقاً لفيزيولوجية الأحياء الدقيقة المستعملة، مثل: استقلاب السكريات.
5. توازن مكونات الوسط، مثل نسبة العناصر بعضها إلى بعض.
6. جودة المنتَج أو المنتَجات النهاية.

ويقترح نيسبت (Nisbet, 1982) الإجراء التالي لاختيار الوسط المناسب:

- ✓ وضع سلسلة من الأوساط ذات الركازات المختلفة بتراكيز محددة للنمو (C، N، P، O).
- ✓ استبدال أي من المركبات الكيميائية القابلة للنضوب خلال التفاعل بمادة أخرى غير نضوبة.
- ✓ استعمال صيغ عديدة الجزيء أو معقدة لمركب التفاعل المحدد للنمو.

- ✓ عدم استعمال مصدر للكربون قابل للتمثل بسرعة (كالغلوكوز)، أو مصدر للنتروجين (كالأمونيا NH^{+}_{4}) يمكن أن تسبب كبحاً للمستقلب.
- ✓ استعمال تركيز كافٍ للتمائم Cofactors المهمة، مثل: أيونات الحديد.
- ✓ صون الوسط لضمان تغيرات رقم الهدروجين في حدودها الدنيا.

وتستدعي المسألة أيضاً اختيار نمط المفاعل الحيوي، فالأوساط في المختبر ليست مثالية للمزارع في مفاعلات الإنتاج الضخم، ويتطلب الوسط عالي اللزوجة طاقة عالية لنقل مثالي للأكسجين، وكذلك يؤثر تركيب الوسط في قيمة رقم الهدروجين، وكمون الإرجاع، وتكوين الرغوة، وضرورة إضافة الأسلاف أو مثبطات الاستقلاب، وفي أشكال الخلايا، لاسيما في الأحياء الدقيقة الخيطية.

وإن عملية التخمر تمر في طورين: طور نمو الأحياء الدقيقة وطور الإنتاج بفعل الخلايا الناضجة، ونادراً ما يكون الوسط والظروف المحيطة اللازمة متماثلة لكل من الطورين، حتى أن النمو يؤدي إلى تغيير في الظروف في بعض الأحيان لتصبح ملائمة لتكوين المنتج، ويكون معدل النمو محدداً بعدد الخلايا المتوافرة وبمعدل نموها النوعي، وكذلك بتركيز أي مادة تفاعل معيّنة؛ وبالتالي فإن معدل تكوين المنتج من مادة تفاعله يعتمد على تركيز الخلايا، والمنتج سيكون محدداً بالمدى الذي تؤثر فيه المسارات البديلة لتكوين المنتجات الثانوية، ويتداخل التحريك والتهوية للتأثير في التراكيز الفضلى للمكونات، وهكذا فالتخمرات تكون مضبوطة بعلاقات معقدة.

وبغض النظر عن مصادر مكونات الوسط، فإن الحاجة أساسية لأن تكون هذه المواد المغذية رخيصة الثمن، وعلى هذا الأساس تعد المنتجات الثانوية للعمليات الزراعية أرخص المصادر لمكونات الوسط، وبصورة خاصة من ناحية مصدر الكربون، وتتوافر في الطبيعة مصادر غنية ومختلفة للكربون والنتروجين وبقية المواد الغذائية الأساسية الأخرى، سواء أكانت هذه المواد منتجات أولية أم ثانوية للعمليات الزراعية أو الصناعية.

أما العوامل الأساسية التي تؤثر في الاختيار النهائي للمواد الخام الفردية فهي الآتية:

1) الكلفة والمقدرة: مثالياً، يجب أن تكون المواد رخيصة الثمن، وذات نوعية ثابتة، ودوام فاعليتها مدة سنة.
2) سهلة الحمل في الأشكال الصلبة أو السائلة، وما يرتبط بالتكاليف كالنقل والخزن، ومتطلبات ضبط درجة الحرارة مثلاً.
3) متطلبات التعقيم وأي مشكلة للتمسخ Denaturation المحتمل.
4) خصائص التشكيل والتعريك والتعقيد واللزوجة التي تؤثر في التحريك والتهوية وتكوين الرغوة خلال التخمر وجريان أطوار العملية.
5) تركيز المنتج الهدف، المحقق، ومعدل تخمره، والحاصل لكل غرام من الركازة المستعملة.
6) مستويات التلوث ومجاله، واحتمال نشوء آخر لمنتجات غير مرغوب فيها، خلال العملية.
7) الأمان والحفاظ على الصحية العامة.

إن التركيب النهائي للأوساط الصناعية ليس وحده المهم في طور التخمر، فالركازة الخام Crude Substrates مرتبطة بالكلفة الأولية، لكن المستويات العالية من المواد الغريبة تحتم كلفة أعلى والاستخلاص المعقد وجريان خطوات التنقية، وربما تزيد تكاليف معالجة المخلفات، وكذلك فالصفات الفيزيائية والكيميائية للوسط المتكون يمكن أن تؤثر في عمليات التعقيم مع نشوء أضرار حرارية بحدها الأدنى وهذا مهم جداً؛ لأن الضرر الحراري يخفف مستوى النوعية، ويمكنه أيضاً تقليل المنتجات الثانوية المثبطة المحتملة التي يمكن أن تتداخل مع جريان العملية، أما خصائص الأوساط الأخرى فيمكن أن تؤثر في استخلاص المنتج وتنقيته، وتكون المسألة أسهل عندما تكون الخلايا منفصلة عن الوسط المُستهلك.

ويجب أن يتفق تركيب الوسط مع المتطلبات الأساسية للأحياء الدقيقة المنماة من أجل تكوين كتلتها الحية، وأن يضمن طاقة كافية للتركيب الحيوي للمنتج، وتعتمد مراعاة تراكيب الوسط على ضمان توازن النمو وتكوين المنتج:

مصادر الكربون + مصادر النتروجين + مصادر أخرى ← كتلة حيوية + منتجات + CO_2 + ماء + حرارة

يجب أن يحقق تركيب الوسط توازناً كمياً يجعل الكلفة أقل، ويصون نقص المكونات الفردية على المستوى الأدنى، ويفيد ذلك في حساب الكميات من الركائز المطلوبة لإنتاج كمية معينة من الكتلة الحيوية، فإذا كانت الكمية من الكتلة الحيوية المطلوبة لإنتاج نوعية معينة من المنتج معروفة يمكن حساب تراكيز الركازات أيضاً من أجل المنتج المرغوب فيه.

لا ريب في أن الأوساط الصنعية تعطي كميات أكبر من المنتجات المطلوبة، غير أن الأوساط الطبيعية هي المستعملة في الصناعات الميكروبيولوجية، وإن كانت تعطي مردوداً أقل، بسبب الكلفة المنخفضة، ولذلك فالمخلفات الزراعية الأساسية والثانوية هي المصادر المفضلة، أو المصادر الصناعية، والعديد من المواد سواء أكانت من مصادر نباتية أم حيوانية تستعمل كأوساط غذائية لنمو الأحياء الدقيقة وإعطاء منتجات مرغوب فيها، مثل: الأعناب المختلفة في صناعة النبيذ، والشعير في صناعة الجعة، والبطاطا في صناعة الغول والمشروبات الغولية، وكذلك الذرة، والقمح، والرز، والتمور، والعديد من الخضار والفواكه.

مع ذلك، يتطلب التركيب الحيوي مكونات الوسط الأخرى وكمياتها، وتحديد العوامل الحاسمة للكميات يكون بتعيين تركيب العناصر في الأحياء الدقيقة (الجدول 5-1)، ويتطلب النمو كميات صغيرة من العناصر الثانوية الأخرى، مثل: Fe، Zn، Cu، Mn، Co، Mo أو B، وتحاليل الأوساط تبيّن غالباً الإفراط بالفسفور والبوتاسيوم ومخزون الزنك والنحاس والعناصر النادرة الأخرى، ويكون تركيز الفسفور في الأوساط عالياً عادة، مما يكفل ضماناً كافياً للصون.

الجدول 5-1 تركيب العناصر في الأحياء الدقيقة (كتلة جافة %) (عن Okafor 2007)

العنصر	الجراثيم	الخمائر	الفطريات
الكربون	53 – 50	50 – 45	63 – 40
الهدروجين	7	7	
النتروجين	15 – 12	11 – 7.5	10 – 7
الفسفور	3.0 – 2.0	2.6 – 0.8	4.5 – 0.4
الكبريت	1.0 – 0.2	0.24 – 0.01	0.5 – 0.1
البوتاسيوم	4.5 – 1.0	4 – 1	2.5 – 0.2
الصوديوم	1.0 – 0.5	0.1 – 0.01	0.5 – 0.02
الكلسيوم	1.0 – 0.01	0.3 – 0.1	1.4 – 0.1
المغنزيوم	0.5 – 0.1	0.5 – 0.1	0.5 – 0.1
الكلورين	0.5	–	–
الحديد	0.2 – 0.02	0.5 – 0.01	0.2 – 0.1

512 مصادر الكربون Sources of Carbon

● السكريات Carbohydrates

هي مجموعة من السكريات المختلفة بدرجة تعقيدها، فمنها البسيطة أحادية السكر Monosaccharides الموجودة عادة في الفواكه، كالغلوكوز من العنب، وهو سهل التمثل تستعمله أحياء دقيقة كثيرة، وهنالك سكريات تسمى قليلات السكر Oligosaccharides وتوجد في اللبن، والسكروز من قصب السكر أو الشوندر السكري، أما السكريات الأكثر تعقيداً؛ فتسمى عديدات السكر Polysaccharides ذات الجزيئات الضخمة ومحلولها في الماء محلول غروي، ويتطلب استعمالها حلها قبل الاستعمال في الأوساط، ومنها السليلوز الواسع الانتشار.

● **المولاس Molasses**

هو المادة الثانوية الرئيسة في صناعة السكر من قصب السكر أو الشوندر السكري، سائل لزج بني غامق يحتوي نحو 30% من وزنه سكروز، ويحتوي نحو 50% من وزنه أملاحاً منحلة عضوية ولاعضوية، يكون مولاس الشوندر غنياً بالبيوتين، في هيئة شراب مركز (شبيه بدبس التمر ، ويسمى العسل الأسود) يتم الحصول عليه في أية خطوة من خطوات عملية صناعة السكر ، ويسمى أسماء مختلفة وفقاً لخطوة التصنيع المأخوذ منها. يحتوي المولاس مواد غنية سكرية ومركبات عضوية ولاعضوية، وهو مصدر لصناعات كثيرة، لا تعتمد على التمر كصناعة الأعلاف واستخراج السكر، أو تعتمد على التخمر كالخل والأسيتون وإنتاج الإنزيمات المختلفة والحموض العضوية، ويقدر الإنتاج العالمي من المولاس بأكثر من ثلاثين مليون طن في العام.

وينتج المولاس عن صناعة الدكستروز من نشاء الذرة أيضاً، ويسمى الهدرول Hydrol الحاوي نسبة كبيرة من السكريات، ولكنه غني بالأملاح.

● **الشعير ومخلفاته Barley and its products**

يحتوي الشعير عدداً من السكريات، مثل: الغلوكوز والفركتوز والمالتوز والسكروز والرافينوز والكيتوز والفركتوزان، ومنتجاته غنية بالسكريات، مثل: المولت Malt ومستخلص المُلت Malt extract والورت Wort، والشعير واسع الاستعمال في صناعة الجعة وإنتاج الخميرة.

● سوائل مخلفات صناعة الورق Waste Liquor of Paper Industry

ينتج عن صناعة الورق سوائل مخلفات السلفيت Sulphite waste liquor، تكوّن اللغنوسلفونات نحو خمسها، و2% سكريات أحادية: الهكسوزات (80%) كالغلوكوز والغالاكتوز والمانّوز، والسكريات الخماسية أي البنتوزات (20%) في الغالب الزيلوز والأرابينوز، وهي تُستعمل لتنمية الخمائر.

تتضمن سوائل المخلفات من أشجار المخروطيات 2 – 3% من السكر (وزن إلى حجم w/v)، وتتطلب السوائل معالجة قبل استعمالها عادة؛ لأنها تتضمن ثنائي أكسيد الكبريت، ويجب ضبط القيمة المنخفضة لرقم الهدروجين مع هدروكسيد الكلسيوم أو كربونات الكلسيوم، وهذه السوائل تكون قد أُضيفت إليها مصادر النتروجين والفسفور.

● الزيوت والدهون Oils and Fats

يمكن استعمال الزيوت النباتية Vegetable Oils لتنمية الأحياء الدقيقة الصناعية، وتُستعمل الدهون الحيوانية على نطاق محدود بسبب صلابتها.

● الأغوال Alcohols

تُفيد الأغوال، مثل: الإيتانول والميتانول كمواد لتنمية الأحياء الدقيقة، فهي متوافرة، وليست باهظة الثمن، وتتصف بجودة عالية وثبات ودرجة تجانس؛ إضافة إلى أنها فعّالة سطحية Surface active.

● الشرش Whey

هو المحلول الذي يتبقى من صناعة الجبن والكازيين، ويُطرح غالباً في المجاري، ويتكوّن من البروتين والدهن، وللطلب الحيوي الكيميائي على الأكسجين BOD قيمة عالية جداً فيه، وتبلغ نحو 60 – 70 ألف ملغ/ل، وتأتي أساساً من اللاكتوز. يستعمل في تغذية العجول وبكميات قليلة منه في المشروبات الغذائية، ويمكن استعماله في بعض الصناعات التخمرية، مثل: صناعة الإيتانول وبروتين الخلية الواحدة بفعل بعض أنواع الخمائر.

● الهدروكربونات Hydrocarbons

يتمكن العديد من الأحياء الدقيقة من استعمال الألكانات n- alkanes، والخلائط هي أفضل للتخمر من المركبات المفردة، المجموعة C_1 – C_9: ومن أهمها الميتان، والمجموعة C_{10} – C_{20}: ومنها الهكساديكان، والمجموعة C_{20} فأكثر: صلبة في درجة حرارة الغرفة، ويجري تفكيكها ببطء شديد.

تنمو الأحياء الدقيقة بسرعة على النتروجين العضوي، وإن كان العديد منها قادراً على استعمال النتروجين اللاعضوي، وقد تُستعمل البولة (اليوريا) في بعض التطبيقات عندما يكون المنتَج مرتفع السعر.

● **سوائل نقيع الذرة Corn steep liquor**

هي المستخلص المائي الثانوي الناتج عن نقع الذرة لإنتاج نشاء الذرة والغلوتين ومنتجات الذرة الأخرى، إذ يحتوي المحلول الباقي نحو 50% مواد صلبة إجمالية، وفيها نحو 50% حمض اللاكتيك الذي يتكوّن خلال عملية التصنيع بفعل الجراثيم اللبنية، ويتضمّن الباقي الحموض الأمينية والغلوكوز والأملاح، ومن الدالات المهمة نسبة النتروجين الأميني إلى النتروجين الإجمالي 0.4، أي 2% نتروجين أميني من الكتلة الجافة، وكذلك محتوى الحموض الأمينية أكثر من 20%، وتُستعمل في صناعة الأعلاف وكوسط مساعد في صناعة التخمر.

● **مستخلص الخميرة Yeast extract**

يوجد المستخلص في هيئة عجينة أو جافة، وتحتوي كميات مهمة من البروتين والفيتامينات (الجدول 5-2).

● **الببتونات Peptones**

يتغير تركيب الحموض الأمينية وفقاً لمصدر البروتين الأصلي، تتضمن الببتونات من المصادر النباتية كميات كبيرة نسبياً من السكريات على نحو ثابت، إلا أن الببتونات غالية جداً عادة فيما لو استعملت في التخمرات الصناعية الضخمة، وتُحضّر بالحمض أو الحَلْمَهة الإنزيمية Enzyme hydrolysis للمواد البروتينية العالية: اللحم والكازيين والهلام والكيراتين وبذور القطن والفول السوداني Peanut meal ومسحوق الصويا Soybean meal وغيرها.

يتضمن مسحوق فول الصويا نسبة عالية من النتروجين والسليلوز والدهون والبروتين وأملاح، ويشبهه الفول السوداني.

الجدول 5-2 تركيب البروتين والفيتامينات في مستخلص الخميرة.

إجمالي البروتين، الببتيدات والحموض الأمينية (%، وزن/حجم)	75 – 73
الحموض الأمينية الحرة	40 – 35
الببتيدات أقل من 600 دالتون	15 – 10
المواد فوق 600 دالتون	30 – 20
الفيتامينات (مكغ/غ)	
التيامين (thiamin Vit. B_1)	30
الريبوفلافين	120
النياسين	700
البيريدوكسين	20
حمض الفوليك folic acid	30
بانتوتينات الكلسيوم calcium pantothenate	300
البيوتين	2.5

ملاحظة: المكونات المعدنية تتغير مع خطوات العملية المستعملة.

514 المواد الإضافية Additive materials

● المعادن Minerals

يوجد في إمدادات المياه طبيعياً كميات كافية من الكوبالت والنحاس والحديد والمنغنيز والموليبدن والزنك، وتوجد كملوثات في مقوّمات الأوساط الأخرى، وقد تتطلب إضافتها في صيغة أملاح نوعية إلى أوساط معينة بسبب الانخفاض الشديد بتراكيزها كما في سوائل منقوع الذرة.

● عوامل النمو Growth Factors

يتمكن العديد من الجراثيم من تركيب جميع الفيتامينات بدءاً من العناصر الأساسية، أما الجراثيم الأخرى، والفطريات الخيطية والخمائر، فتتطلّب إضافة

عوامل النمو كمكمّلات إلى وسط التخمر، مثل: فيتامينات التيامين والريبوفلافين وحمض النيكوتين والبيريدوكسين والبيوتين والكولين والبانتوتين والإينوزيتول.

ويتضمن معظم مصادر الكربون والنتروجين الطبيعية بعض الفيتامينات المطلوبة على الأقل، ويجب إضافة الفيتامينات النقية إلى أوساط بعض الأحياء الدقيقة، مثل: الفيتامين B لإنتاج خميرة الخبز.

وقد يكون ضرورياً إضافة الحموض الأمينية أو النكليوتيدات أو الحموض الدسمة أو الستيرويدات، وتُضاف إما في صيغة نقية وإما لأسباب اقتصادية، كخلاصات نباتية وحيوانية أقل كلفة.

- **الأسلاف Precursors**

يجب إضافة أسلاف نوعية إلى بعض التخمرات، ولاسيما من أجل إنتاج المُستقلبات الثانوية، حيثما تكون مطلوبة، وتضاف غالباً بكميات مضبوطة، وبصيغة نقية نسبياً، مثل: حمض الفينيل أستيك أو الفينيل أسيتاميد التي تضاف كأسلاف إلى السلسلة الجانبية في إنتاج البنسلين.

- **المحرّضات والمُحفّزات Inducers and Elicitors**

إذا ارتبط تكوّن المنتَج مع وجود مركب محرّض نوعي، يجب دمجه ضمن وسط النمو أو إضافته في نقطة معينة من التخمر، ويرتبط إنتاج المستقلبات الثانوية كالفلافونيدات Flavonoids والتربينويدات Terpenoids في الخلية النباتية مع مُحفّزات Elicitors تُنتجها أنواع من الأحياء الدقيقة، والعوامل الممرضة للنباتات ولاسيما الفطريات.

- **المثبطات Inhibitors**

تستعمل المثبطات لإعادة توجيه الاستقلاب نحو المنتَج الهدف وتقليل تكوين المركبات البينية الاستقلابية الأخرى التي توقف المسلك في نقطة محددة فتمنع استقلاب المنتَج الهدف، مثل: ثنائي سلفيت الصوديوم الذي يستعمل في إنتاج الغليسرين بفعل *Saccharomyces cerevisiae*.

● معدّلات نفاذية الخلايا Cell Permeability Modifiers

تزيد هذه المركبات نفاذية الخلايا بتعديل الجدر الخلوية و/أو الأغشية المعززة لتحرر المنتجات ضمن الخلوية إلى وسط التخمر، وتتضمن المركبات المستعملة: البنسلينات Penicillins والمواد الفعّالة سطحياً Surfactants، وقد أضيفت كثيراً إلى تخمرات الحمض الأميني، متضمنة عمليات إنتاج الحمض L-الغلوتاميك باستعمال أفراد الجنس *Corynebacterium* والجنس *Brevibacterium*.

● الأكسجين O_2

يمكن استعمال الأكسجين في الهواء المكوّن من نحو 21% (v/v) أكسجين، أو أحياناً كأكسجين نقي عندما يكون طلبه عالياً بوضوح، وفقاً لما يتطلبه أيّ من الأحياء الدقيقة، فالطلب على الأكسجين يكون متبايناً بحسب مصدر الكربون، ويكون استعمال الهواء أو الأكسجين في غالبية التخمرات باستعمال مرشحة معقمة مسبقاً من أجل الحقن في المخمر.

● الماء Water

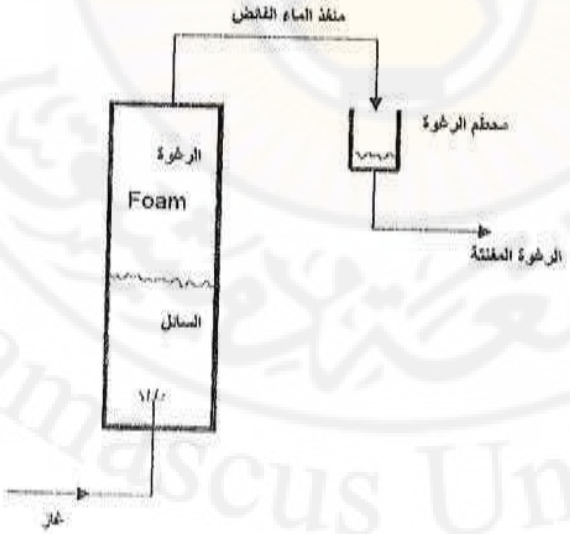
تتطلب عمليات التخمر جميعها كميات كبيرة من الماء، ما عدا تخمرات الركازة-الصلبة Solid-substrate، والماء مكون أساسي للأوساط ويزودها غالباً بالعناصر الصغرى Microelements، وهو مهم للتنظيف ولعزل الخلايا واستحصال المنتج؛ ولذلك يجب تأمين مصدر موثوق من الماء النظيف الثابت التركيب، والتأكد من إزالة المواد الصلبة العالقة والغرويات والأحياء الدقيقة قبل الاستعمال عموماً، ويجب التخلص من قساوة الماء أيضاً بإزالة كربونات الكلسيوم، وربما إزالة الحديد والكلور، ولابد من تنقية المياه جيداً عند تطبيق بعض تخمرات التركيب الخلوي للنباتات والحيوانات على نحو مميز.

ويصبح الماء غالياً أكثر بسبب إعادة التدوير، أو إعادة الاستعمال، حيث يكون ذلك ممكناً، وهذا يقلل كلفة الماء إلى الحد الأدنى، ويقلل حجم المخلفات السائلة الواجب معالجتها.

تسبب عمليات التهوية والتحريك في الأوساط السائلة تكوين الرغوة، ويحدث ذلك خصوصاً في الأوساط التي تحتوي مستويات عالية من البروتينات أو الببتيدات، وعلى العكس تكون الأوساط المكونة أساساً من مواد لاعضوية وسكريات نقية نسبياً أقل احتمالاً لإحداث الرغوة.

تسبب الجراثيم المفككة للبروتينات الرغوة على نحو سيئ؛ لأن الببتيدات المتكونة تكون ثابتة عموماً، ولا تسبب الأحياء الدقيقة مشكلات دوماً في المخمرات بسبب الرغوة على أوساط عالية بمستويات البروتين، وقد يكون ظهور رغوة ثابتة دليلاً على حدوث تلوث بالأحياء الدقيقة الدخيلة Allochthonous.

في حال الفشل بالتحكم في الرغوة، قد تملأ الرغوة الفراغ الرأسي في المخمر، وقد تخرج مع الهواء؛ مما يؤدي إلى التلوث بفعل الجراثيم المفككة الواصلة من الخارج، وتصبح قادرة على الوصول أيضاً إلى المخمر، والرغوة الشديدة عامل معيق للتهوية وعملية التخمر؛ ولذلك يجب التخلص منها (الشكل 5-1) باستعمال مواد مانعة للرغوة، ويوجد منها نمطان:



الشكل 5-1 تفتيت الرغوة.

- المواد المانعة للرغوة الخاملة Inert Antifoam Agents: منها مركبات السليكون المختلفة التي تعد الوسيلة الفضلى للتحكم في الرغوة، ولكنها غالية الثمن، مكلفة في حال استعمالها في التخمرات الصناعية على نطاق واسع، وهي غير سامة، تتحكم في تكوين الرغوة، ولا تفككها الأحياء الدقيقة، يمكن إضافتها إلى الوسط قبل التعقيم، ولها أهمية خاصة في الأبحاث الأولية عن تخمر جديد، فهي تسمح بدراسته في غياب العوامل الأخرى.
- العوامل المانعة للرغوة العضوية الخام Crude Organic Antifoam Agents: لا تؤثر عادة كمواد للتحكم عند إضافتها إلى الوسط قبل التعقيم، ولذلك يجب تعقيمها بمفردها قبل الإضافة، سامة للأحياء الدقيقة، وهي غير فعالة في حال الرغوة الشديدة، من أمثلتها: الزيوت النباتية، وزيت الصويا، وزيت دوار الشمس، وزيت بذور العنب، وزيت السمك مزال الرائحة، والأغوال القطبية، والغليكولات المُؤلكَلة alkylated، ويمكن أن يترك بعض هذه المضادات تأثيراً معاكساً في مسار العمليات، ولاسيما الترشيح الغشائي.

ويجب أن يمتلك مضاد الرغوة المثالي الخواص الآتية:

1. قابل للتشتت بسهولة وسرعة مع فعل سريع.
2. نشاطه عالٍ بتراكيز منخفضة.
3. فعله مديد.
4. غير سام للأحياء الدقيقة الصناعية، وللإنسان أو الحيوانات.
5. منخفض التكلفة.
6. الثبات تجاه الحرارة العالية.
7. الانسجام مع مكونات الوسط الأخرى ومع العملية، أي لا يمتلك تأثيراً في معدلات نقل الأكسجين أو جريان العمليات.

520 تقنيات تنمية الأحياء الدقيقة الصناعية

Techniques for Culturing Industrial Microorganisms

521 اللقح Inoculum

لا بد من تحضير لقح Inoculum أو بادئ (Starter) بتتابع مرحلي عن طريق استعمال أحجام متزايدة من الوسط 0.5 – 5% من الحجم، وفي بعض الأحيان حتى 20% أو أكثر من الخطوة السابقة إلى التالية، عدا الخطوة الأولى التي يجري فيها تلقيح الوسط مباشرة من المزرعة الأصلية، وفي كل خطوة ينبغي أن تنمو الأحياء الدقيقة بسرعة وبكمية كبيرة، حيث تكون المدة اللازمة للحضن قصيرة جداً، ويجب أن يتراكم قليل من منتَجات التخمر إذا حدث التراكم، لوجوب نقل الخلايا إلى كميات أكبر من الوسط وهي لا تزال في الطور اللوغاريتمي.

في الواقع، يؤمّن وسط اللقح نمواً خلوياً سريعاً عادة ولا يؤدي إلى تكوين المنتَج، وهنالك إجراءات وتدابير مختلفة لتحقيق عملية التكيف Adaptation للأحياء الدقيقة، ويجري ذلك في المخمرات عن طريق التهوية والتحريك، ويرتبط نجاح التطبيق الصناعي للأحياء الدقيقة بالتلقيح عند تحقيق المقاييس الآتية:

- ✓ يتركب من خلايا نشطة سليمة، حيث يكون طول طور الكمون في حده الأدنى.
- ✓ متاح بكميات ضخمة كافية، حيث يمكن إنجاز اللقح في حجم ضخم كافٍ.
- ✓ له شكل مورفولوجي مناسب.
- ✓ خالٍ من الملوثات بالأحياء الدقيقة الأخرى أو العاثيات.
- ✓ يحتفظ بقابلية لتكوين المنتج.

يكون تركيب الوسط عاملاً مؤثراً في الخواص السابقة، ويجب الأخذ في الحسبان أنه يمكن التحقق من مناسبة وسط التلقيح فقط خلال التنمية في مرحلة الإنتاج، وتكوين المنتَج في المزرعة الملقحة ليس حاسماً، وعندئذ يمكن أن يتميز منه تركيب وسط التلقيح في طور الإنتاج.

يقلل نمو اللّقح Inoculum في وسط الإنتاج طور الكمون إلى حده الأدنى، وهذا يعاكس حقيقة أنه عندما يكون تركيب وسط التلقيح مشابهاً لوسط الإنتاج، ففترة تكيّف المزرعة للأخير تكون أقصر، وبذلك يقل الوزن الإجمالي للمزرعة.

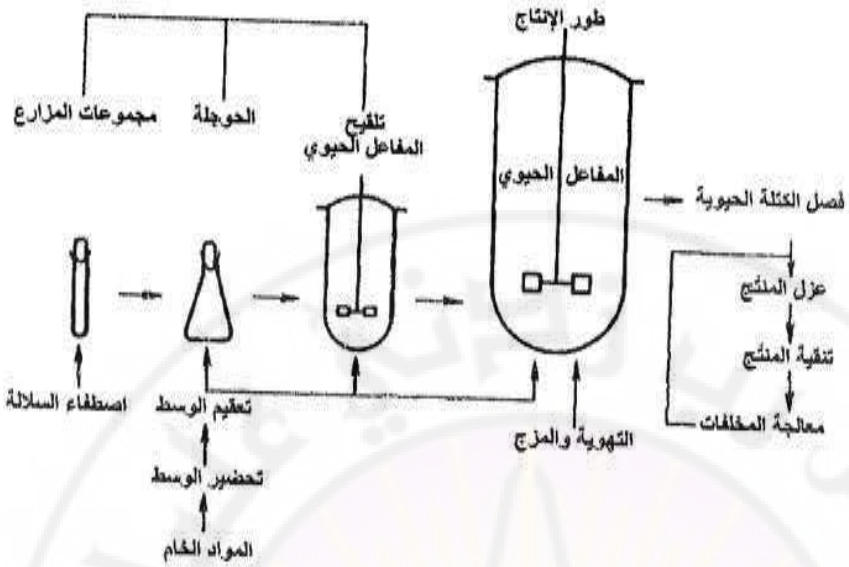
يتعلق اللقح المستعمل بحجم الوسط عادة بمعدل 3 إلى 10%، فحجم اللقح يزداد لذلك مع زيادة حجم أداة المزرعة، ويتضمن المقياس 2 إلى 3 أطوار للمزرعة في الحوجلات على الرجّاج و 1 إلى 3 لمراحل التنمية في المفاعل الحيوي المعتمد على حجم المفاعل الحيوي النهائي، وزيادة عدد الخطوات تزيد خطر التلوث وفساد السلالة، ويتطلب تحكماً صارماً في اللقح، ولذلك يجب المقارنة بين حجم اللقح المستعمل وعدد مراحل التلقيح، وخطر تلوث السلالات وفسادها.

ويكون الإجراء الأساسي كالآتي:

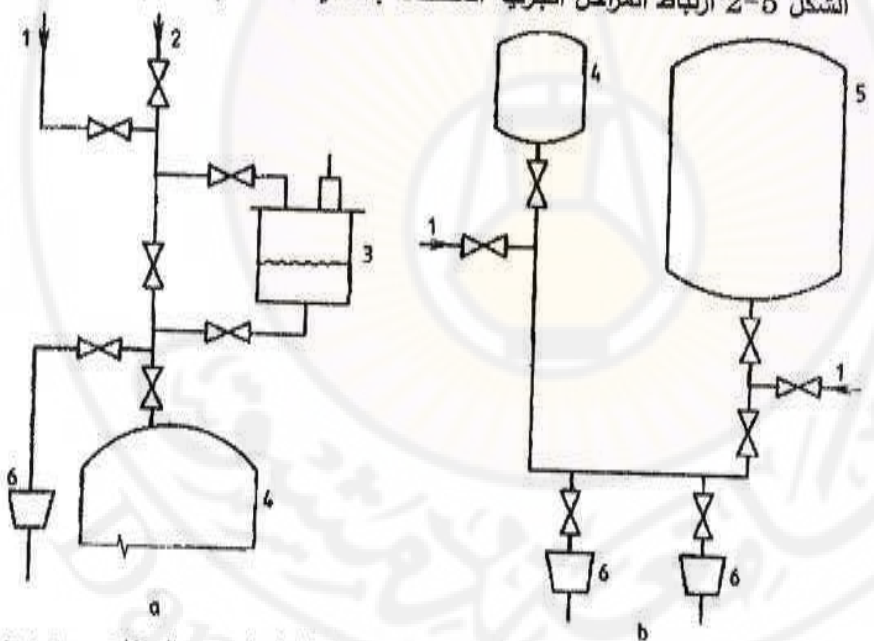
تكون المزرعة الأصل قد زرعت على طبق الوسط الصلب، ويجري اصطفاء نحو عشر مستعمرات نموذجية ومتماثلة من حيث المظهر وتلقيح الأغار المائل بها، وهذه المرحلة تنتج تحت مزارع Subcultures يفيد كل منها كأساس لدورة إنتاج جديدة.

من المناسب إظهار كمية تحت المزارع هذه في التلقيح ضمن الحوجلات قبل نقل اللقح إلى المفاعل الحيوي للإنتاج، وتُستعمل تحت المزارع لتلقيح حوجلات سعتها 250 – 500 مل في الحجم عادة، وتسمى المزارع الأولية Precultures التي تفيد بدورها في تلقيح الحوجلات الضخمة أو المفاعلات الحيوية في المختبر التي تستعمل لتلقيح مفاعلات المحطة الإرشادية Pilot (الشكل 5-2)، وفي كل طور يجب التأكد من خلو المزرعة من التلوث، ويجب أن تجرى طريقة التحكم في النقاوة بأسرع ما يمكن.

لا تكون نتائج الاختبارات السابقة معروفة غالباً قبل نقل اللقح وبدء طور الإنتاج، فهي تزود بالمعلومات في الطور حيث يظهر التلوث، وعند التبوّغ يمكن تعديل الإجراء لتحضير اللقح باستعمال معلّق الأحياء الدقيقة (الشكل 5-3).



الشكل 5-2 ارتباط المراحل الجزئية المتحكمة بالعملية الصناعية للأحياء الدقيقة.



(a) لقح المفاعل الحيوي بمعلق الأبواغ، (b) لقح المفاعل الحيوي الصناعي من وحدة الذراري؛ 1. مدخل البخار، 2. تغذية بالهواء المعقم، 3. الإناء المتضمن الأبواغ، 4. مفاعل الذراري، 5. المفاعل الحيوي لإنتاج، 6. الفرازة.

الشكل 5-3 نظم نقل اللقح إلى المفاعل الحيوي (Sikyta 1995).

522 المزرعة الأولية Preculture

تُحضَّر كمية مناسبة من اللقح ونصف لتر إلى لترين من وسط التخمر ضمن دورق، يُحرك الوسط فترة معينة، ثم تُضاف محتوياته إلى إناء صغير.

بعد عملية حضن مدة معينة، تتكون المزرعة الأولية التي تفيد في تلقيح المخمر الصناعي، ويُحافَظ عادة على نسبة تلقيح 5 – 10% من معلق الوحدات (أفطورة، وخلايا، وأبواغ)، يحتوي $1 - 5 \times 10^5$ بوغ (وحدة فطرية) لكل مليلتر من الوسط، ولا بد من استعمال نموات فطرية نقية تتصف بنشاط حيوي في مراحل الإنتاج جميعها.

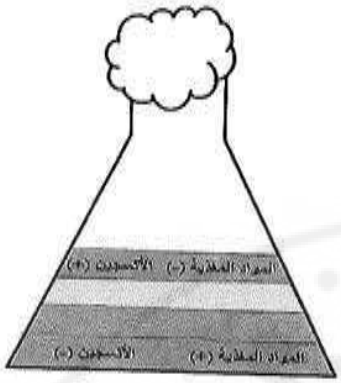
530 المزرعة ذات الدفعة الواحدة Batch Culture

يجري تلقيح الوسط المناسب بالسلالة المطلوبة وحضنه في الظروف الفضلى مدة معينة، ثم فصل الخلايا بالترشيح أو بالطرد المركزي، تكون المواد الغذائية متوافرة في بداية التجربة، وتتنامى الخلايا ويجري استحصالها دفعة واحدة ضمن جملة مغلقة، وتقسم هذه الطريقة وفقاً لنوع الأحياء الدقيقة، إلى:

- **المزرعة الساكنة Static Culture**

تُعقم الدوارق ذات السدادة القطنية (الوعاء مع الوسط)، ثم يجري التبريد فالتلقيح، الأفضل بالأبواغ التي تستقر على السطح، وتنشأ المزرعة الساكنة عندما يكون الوسط السائل في حال سكون، وتنمو فيه الأحياء الدقيقة مكوّنة طبقة من الخلايا السطحية أو الأفطورة، لا تتضمن المزرعة أي عمليات تحريك أو رج أو تهوية آلية، فالاهتزاز يؤدي إلى تمزق الطبقة السطحية الساكنة أو غرقها في الوسط، وقد استعملت منذ زمن بعيد للحصول على أبواغ الفطريات أو الحَشِيّة Mat، ويمكن تحقيقها باستعمال أنبوب اختبار أو دورق فيه وسط سائل أو أي وعاء معدني خاص آخر، وقد تسمى المزرعة السطحية Surface Culture، وهي تتطلّب مساحات كبيرة، تتراوح ظروف التخمر بين زيادة في المواد الغذائية ونقصها، وظروف لاهوائية جزئياً وهوائياً (الشكل 5-4).

يكون نمو الفطريات شبيهاً بنموها على أوساط الآغار الصلبة، وتصلح المزرعة السطحية لتنمية الفطريات الدعامية التي لا تنمو ضمن الوسط المغذي السائل.



الشكل 5-4 نمو المزرعة السطحية Surface culture.

- **المزرعة المهتزة Shake Culture**

تنشأ عند رج أو هز الوسط عند الحضن بمكوناته جميعها بما فيها اللقح على الرجّاج Shaker ذي السرعات المختلفة، ويمكن تحقيقها باستعمال دورق صغير فيه كمية صغيرة من الوسط (20 – 40% من الحجم) بهدف تسهيل الرج وزيادة معدل التهوية، ويمكن رجها آلياً في حال المخمرات والأواني الكبيرة.

يؤدي الرج إلى انحلال الأكسجين وتجانسه في الوسط السائل، وإلى تجانس الخلايا والمواد الغذائية أيضاً، يستعمل الدورق الهزاز للحصول على مزرعة مغمورة تسمح بتخمير سريع لكمية صغيرة من الوسط بهدف تقييم السلالات الصناعية واختبار صلاحية الأوساط الغذائية، ترتبط كفاءة التهوية بسرعة الرج ومدته، وتتناسب كفاءة الرج والتهوية عكسياً مع عمق الوسط في الدورق، وهي طريقة أكثر كفاءة من المزرعة الساكنة في الإنتاج الكمي للخلايا، حيث تسمح على نحو أفضل بامتصاص المواد الغذائية واستهلاك الأكسجين.

وتقسم التخمرات الصناعية عموماً إلى مجموعتين:

- مجموعة بحاجة إلى تهوية بسيطة، مثل: إنتاج الإيتانول والأسيتون التي تحتاج إلى تهوية في المرحلة الأولى من التخمر فقط، ويستمر الرج الخفيف بعدئذ لتوزيع الحرارة والمواد الغذائية.

- مجموعة بحاجة إلى تهوية شديدة، مثل: إنتاج معظم الصادات، وهي بحاجة إلى مصدر دائم للتهوية ولا بد من الرج بقوة عن طريق التحريك لمنع تكوّن جيوب ساكنة في الوسط.

- **مخمر الدفعة الواحدة Fermenter as Batch Culture**

يستعمل المخمر بهدف الوصول إلى أنسب الظروف لتنمية الأحياء الدقيقة الصناعية، ويتعلق تصميمه بطريقة التنمية، والمادة الخام، والمنتج النهائي.

540 مزرعة الدفعة الواحدة المغذاة Fed Batch Culture

إن إضافة المواد الغذائية إلى مزارع الدفعة الواحدة، ولاسيما مصدر الكربون في البداية، تؤدي إلى إنتاج كمية قليلة من الخلايا مقارنة بكمية الكربون المستعملة؛ لأن جزءاً من السكر يتخمر، ويكوّن حموضاً عضوية وأغوال، وإذا زاد تركيز الغلوكوز في وسط الخميرة على 5% فإنه يثبّط إنزيمات الأكسدة والإرجاع؛ مما يدفع الأفراد إلى الحصول على الطاقة بتخمير السكر في الظروف الهوائية، ويمكن تفادي ذلك بالأساليب الآتية:

- يمكن إضافة السكر على فترات متساوية، إذ يُضاف جزء منه كل ساعة خلال فترة الحضن مدة 15 ساعة، الأمر الذي يؤدي إلى زيادة عامل النمو إلى 30%.
- ويمكن إضافة السكر على فترات بكميات متزايدة بنسبة متساوية؛ إذ يُضاف غرامٌ واحد في الساعة الأولى، وغرامان في الساعة الثانية، وثلاثةُ غرامات في الساعة الثالثة إلى نهاية فترة الحضن؛ الأمر الذي يؤدي إلى زيادة عامل النمو إلى 40%.
- كما يمكن إضافة السكر بمعدل يتساوى مع معدل نمو الأحياء الدقيقة، إذ يُضاف السكر بما يساوي معدل النمو في الساعة؛ الأمر الذي يؤدي إلى زيادة عامل النمو إلى 50%، وهذا هو أسلوب الدفعة الواحدة المغذاة، ويمكن الاستفادة من جداول خاصة لتحديد معدل النمو.

ولما كانت إضافة السكر بمعدل يتساوى مع معدل النمو في الساعة مسألة صعبة، فإنه يجب إضافة الوسط الغذائي الحاوي السكر إلى المزرعة بمعدل تخفيف Dilution Rate (D) يساوي معدل النمو النوعي Specific growth rate (μ)، ويمكن حساب التخفيف بالمعادلة:

$$D = F\,(V + Ft)^{-1}$$

حيث إن:

D معدل التخفيف.

F معدل الإضافة (مل/ سا).

V حجم المزرعة، مل.

t زمن الإضافة.

ولما كان عامل النمو يمثّل كمية النمو لكل وحدة واحدة من السكر المستعمل (Y = A/S)، فإنه يمكن وصف النمو في مزارع الدفعة الواحدة المغذاة كالآتي:

$$F \,.\, S = \mu\,(A / Y)$$

حيث إن:

F معدل الإضافة (مل/ سا).

S السكر المستهلك.

μ معدل النمو النوعي.

A كمية النمو.

Y عامل المردود Yield factor.

550 المزرعة المستمرة Continuous Culture

تُتيح الظروف الفضلى تنمية الأحياء الدقيقة من دون توقف، ويمكن تفادي العوامل المؤدية إلى توقف النمو بإضافة وسط غذائي جديد باستمرار إلى المخمر، وسحب كمية مماثلة من المزرعة بالمعدل ذاته؛ الأمر الذي لا يترك أي تأثير لمنتجات الاستقلاب في معدل النمو.

يكون معدل نمو الأحياء الدقيقة ضمن المخمر في حالة الاستقرار Steady state، وتُجرى الدراسات الحيوية خلال هذه الفترة، وتستمر حالة الثبات هذه مادام معدل إضافة الوسط ثابتاً ومساوياً معدل سحب المزرعة؛ أي تنمو الأحياء الدقيقة بمعدل يتناسب مع معدل إضافة الوسط، ويستمر هكذا في ثبات حتى يتغير معدل التغذية.

وتتوقف معايير النمو على معدل إضافة الوسط (كمية الوسط المضاف مل/سا) إلى المخمر؛ ونظراً إلى تغير حجم المخمر، فإن معدل التدفق ينسب إلى كمية المزرعة في المخمر للحصول على معدل التخفيف؛ أي الكمية المضافة من الوسط إلى المخمر في الساعة لكل وحدة من حجم المزرعة في المخمر، ويحسب كالآتي:

$$D = F \div V$$

حيث أن: D معدل التخفيف.

F معدل الإضافة (مل/سا).

V كمية المزرعة في المخمر.

يفيد استعمال طريقة المزرعة المستمرة في معرفة بعض خواص التفاعل المهمة في إنتاج مادة ما على المستوى الصناعي، حيث تصعب معرفتها بوسيلة أخرى، وأهم هذه الخواص: معدل نمو الخلايا والظروف الغذائية والفيزيولوجية السائدة وكثافة الخلايا، ويمكن تحقيق طريقة المزرعة المستمرة بطريقتين:

- منظم العكر Turbidostat: يفيد في التحكم في تركيز الخلايا ضمن المخمر اعتماداً على قياس درجة العكر بزيادة أو خفض معدل الإضافة حتى بلوغ درجة العكر الملائمة.
- المنظم الكيميائي Chemostat: يفيد في التحكم في تركيز الخلايا ضمن المخمر اعتماداً على قياس المادة الغذائية المحددة لنمو الأحياء الدقيقة، مثل: تركيز السكر بزيادة أو خفض معدل الإضافة حتى بلوغ تركيز العناصر الغذائية الملائمة.

560 أنماط التخمرات Types of Fermentations

التخمرات المزدوجة أو العديدة Dual or Multiple Fermentations

هي التخمرات التي يُستعمل فيها أكثر من نوع من الأحياء الدقيقة، ويجري تلقيح الوسط بالأحياء الدقيقة في الوقت نفسه أو على التوالي، ويمكن الجمع بين تخمرين منفصلين أيضاً بعد حدوث النمو في الأوساط الأصلية لإكمال النشاط الإضافي، ونلجأ إلى هذه التخمرات عندما يتمكن اثنان أو أكثر من الأحياء الدقيقة من إنجاز ما لا يمكن أن يُنجزه نوع واحد بمفرده.

وهناك استعمالات عديدة ومهمة للتخمرات المزدوجة أو العديدة منها:

+ استعمال نوع واحد من الأحياء الدقيقة لإنتاج ناتج التخمر الذي يتحول بعد ذلك أو يتغير بفعل نوع آخر أو عدة أنواع من الأحياء الدقيقة إلى نواتج تخمرية مختلفة لها قيمة اقتصادية أكبر:

تنتج الخميرة الغول الإيتيلي أولاً ثم تقوم أنواع جراثيم *Acetobacter* بتحويل الغول إلى الخل.

+ استعمال نوع من الأحياء الدقيقة لتغيير أو تهيئة الوسط ليصبح أكثر ملاءمة لنمو نوع آخر:

يجهز النوع الأول للجراثيم نشاطاً لإنزيمات الأميلاز أو البروتياز من أجل النوع الثاني الذي يفتقر إلى هذه النشاطات.

+ استعمال نوع ما لإزالة النواتج الثانوية الاستقلابية السامة لنوع آخر، أو نوع أول لتجهيز عوامل نمو لآخر، أو نوع لإزالة الأكسجين أو لخفض جهد الأكسدة والإرجاع لنوع لاهوائي، أو نوع ليبقى مدى رقم الهدرجين حرجاً لنوع آخر.

+ استعمال نوع لإعطاء ناتج استقلابي، مثل: حمض اللاكتيك الذي يكون مفيداً لنمو نوع آخر مثل الخميرة، وفي الوقت نفسه يساعد في التحكم في التلوث.

ولذلك لا بد من دراسة مستفيضة للأنواع المستعملة، ومن الأفضل أن تكون متعايشة أو متكافلة.

التخمرات المتقطعة والمستمرة Batch and Continuous fermentations

التخمرات المستمرة هي تخمرات يضاف فيها وسط مغذ جديد إما باستمرار أو على دفعات لجزء من الوسط من أجل استرجاع الخلايا أو نواتج التخمر، والتخمرات المتقطعة أو ذات الوجبة الواحدة يلقح فيها حجم كبير من الوسط المغذي ثم بعد تحقيق النمو والتركيب الحيوي الكيميائي للحصول على أعلى كمية ممكنة من الناتج يجري إيقاف عملية التخمر لاسترجاع الناتج، وينظف المخمر ويعاد تعقيمه استعداداً لبدء تخمر جديد.

ومن أشهر أنواع التخمرات المستمرة: إنتاج الجعة، وإنتاج خمائر الأعلاف، وإنتاج الخل، وإنتاج خميرة الخبز (من المولاس)، وإنتاج بعض الصادات، مثل: البنسلين والكلورامفينيكول والستربتوميسين، وصناعة النبيذ، وإنتاج الفيتامين B_{12}، الإنتاج المستمر لبروتين الطحالب، وتستعمل هذه الطريقة كذلك في التخلص من المخلفات.

570 خزن المزارع Storage of Cultures

لابد من خزن المزارع الصناعية لكي تكون متوافرة نقية، ويمكن استعمالها مرات عديدة عند الطلب دوماً، وغالباً ما تكون نتيجة اصطفاء أو تحسين ودراسة بصفاتها المميزة بنشاطها الحيوي وإنتاجها للمادة المرغوب فيها، على الأوساط المناسبة.

571 ظروف النمو Growth Conditions

تتباين درجات الحرارة الفضلى وفقاً لنوع السلالة المستعملة، وهي في الغالب 20 – 25 س°، وإن كان بعضها ينمو بدرجة حرارة أدنى أو أعلى، وتزداد فترة الحفظ عموماً بانخفاض درجة حرارة الخزن، ويمكن أن يتصف الضوء بتأثير إيجابي في بعض السلالات أو في مرحلة من حياتها، ويجب أن يكون الوسط كافياً للتنمية بحيث لا يسمح بتكوين الأبواغ، ومعظم السلالات ينمو في pH 4 – 7، وإن كان بعضها يفضل الوسط الحمضي أو القلوي، وتتطلب سلالات كثيرة وجود الأكسجين، وينمو بعضها في غياب الأكسجين.

572 صعوبات تجديد المزارع Difficulties of Renovate of Cultures

تُخزن السلالات عادة على الأغار المائل، مع تجديدها عند الضرورة، وإن كانت العزلات تنمو في الغالب بوسائل أخرى وعلى أوساط عديدة، وقد يكون التجديد كل أربعة أو ستة أو ثمانية أشهر، ولكن الأمر يصبح عملاً صعباً في حال وجود مزارع عديدة للأحياء الدقيقة، وقد تتعرض العزلة للضعف أو الموت، وعند الاختيار لا بد من الأخذ في الحسبان حالة العزلة وعمرها؛ إضافة إلى تهديد التلوث في أية مرحلة من مراحل التعامل معها.

573 طرائق خزن المزارع Methods of Cultures Storage

يُمكن صون الأحياء الدقيقة الصناعية وخزنها بطرائق مختلفة، كالتجفيف والتبريد، وحفظ المزارع في نشاط استقلابي محدود limited:

(1) التجفيف Dehydration

ما دام النشاط الاستقلابي يتطلب الماء، فإن التجفاف Dehydration وسيلة مرغوب فيها تعوق التغيرات في مزارع الأحياء الدقيقة، وهي لا تزال تُستعمل منذ عقود كثيرة (Heckley 1978)، ويجرى تجفيف الأحياء الدقيقة في الوسط على ركائز صلبة أخرى.

الموئل الطبيعي لأحياء دقيقة عديدة هو التربة، حيث يمكن عزلها حتى بعد خزن مديد، فالتربة المعقمة تُستعمل لتحريض التبوّغ وخزن أبواغ جراثيم Clostridia و Bacilli المتبوغة الهوائية واللاهوائية، إنه مناسب أيضاً من أجل الشعيّات Actinomycetes والفطريات التي تبقى في الظروف الجافة ليس فقط كأبواغ؛ إنما كخلايا إعاشية جافة، لأن نشاطها الاستقلابي منخفض وكميات الطاقة غير الكبيرة التي تحتفظ بها.

ويمكن إجراء الصون بالتجفيف أيضاً باستعمال السليكاجل، الإجراء بسيط ولا يتطلب جهازاً خاصاً، توضع كمية كافية من السليكاجل في أنابيب الاختبار بسدادات قطنية، تجفف وتعقم مدة 1.5 إلى 2 سا في درجة الحرارة 175 س°.

(2) الآغار المائل Agar Slants

يمكن خزن المزرعة وصون حيويتها (ليس دائماً) على الآغار المائل، وقد استُعمل على نطاق واسع أعواماً في البراد أو تحت التربة، ولكن بعض المزارع، مثل: *E. coli* تفقد قابلية الإنتاج المفرط للإنزيمات بعد الحفظ بالتجفيد، ويمكن حفظها بنجاح على آغار الكفاف (حد الجوع) مدة أربع سنوات (Pavlasova *et al.*, 1986)، ويمكن حفظ الأعفان أشهرَ وسنوات (حتى 4 سنوات).

(3) الخزن في الماء Water Storage

تموت غالبية الأحياء الدقيقة بسرعة بعد نقلها إلى الماء المقطر، غير أن مزارع *Pseudomonas solanacearum* تبقى في الماء المقطر أكثر من عقد مع أنها تموت بسرعة خلال الخزن في الثلاجة، وأبواغ أنواع الفطريات المختلفة التي فُحصت قدرتها على البقاء مدة طويلة في الماء ضمن البراد (Marx and Daniel 1976) تؤكد إمكان صون الأبواغ والخلايا في الماء.

(4) المزارع المجمّدة Frozen cultures

طريقة مستعملة على نطاق واسع بنجاح كبير لحفظ الأحياء الدقيقة الصناعية (Dietz and Churchill, 1985)، تُنقل المزرعة في المعلّق Suspension في ظروف عقيمة إلى قارورة مع وسيلة حفظ قريّة Cryoprotective، مثل 10 حجم في جزء من الغليسرين (أو العسل)، تُغلق القارورة بالصهر وتوضع في إناء فيه نتروجين سائل، تفقد الجراثيم الموجبة بصبغة غرام و 3% من السالبة بصبغة غرام قابلية النمو Viability بسرعة، والعسل أفضل للخزن من الغليسرين، إضافة 5% (حجم/حجم) لاكتوز، ومالتوز أو رافينوز إلى 10% (حجم/حجم) غليسرين يحسن قابلية النمو لأبواغ الخلايا الإعاشية وجزيئاتها (Daily and Higgens, 1973).

يمكن صون المزارع بتجميد لا يكوّن الماء فيه بلورات ثلجية في 0 س° (Anonymous, 1985)، يُشتت الماء في زيت خامل في قطيرات صغيرة فتتجمد وتُشتت في الطور الزيتي، عندئذ يُجمد المزيج حتى - 40 °م، يجري الصون

بدرجة حرارة منخفضة بإهمال التأثير المميت للتجميد، وتكون إضافة مركبات الصون بالتجميد غير ضرورية إلى المزرعة في التجميد العميق Deep freeze.

(5) التجفيد Freeze-drying

التجفيد Freeze-drying أو Lyophilization طريقة واسعة الاستعمال لصون مزارع الأحياء الدقيقة (Heckley 1978)، حيث تُعلق الأحياء الدقيقة في الوسط كالمصل أو الحليب المقشود وتنقل إلى حُبابات Ampoules زجاجية معقمة. عندئذ تتجمد هذه بسرعة إلى درجة حرارة منخفضة مصاحبة فتجفف تحت التخلية العميقة Deep vacuum. تغلق الحُبابات بإحكام عندئذ بالصهر وتوضع في البراد، مع إجراء دقيق فإن قابلية الحفظ لغالبية المزارع المجفدة تكون أكثر من 10 سنوات، ويتضمن ذلك اختيار وسط الصون المناسب، والغازات المتنوعة لملء الحُبابات بعد التجفيد، والتطبيق على أنواع معينة من الأحياء الدقيقة.

(6) الزيت أو السيليكاجل أو التربة.

يمكن تغطية النموات الفطرية الجيدة بطبقة من زيت معدني Mineral Oil ثخانتها نحو سنتيمتر واحد، مثل البرفين؛ مما يحفظ النمو البطيء للنموات، وقد تكون فترة الحفظ طويلة، ولكن بعض الأنواع تكون عرضة للتغير.

ويمكن تعقيم التربة Soil وإضافة معلق الأبواغ وتركها لتنمو نحو 10 أيام، ثم خزنها في البراد بدرجة حرارة 5 – 8 س°.

ويمكن إضافة المعلق إلى السيليكاجل Silica gel اللامائية ضمن قناني تُترك لتجف خلال أسبوعين، ثم تُغلق بإحكام.

574 التحكم في الأحياء الدقيقة المحفوظة

Control of Conserved Microorganisms

يمكن تحقيق ذلك بطريقتين: فالمزرعة الأولية الأبوية هي المزروعة في فترات منتظمة (مثلاً سنة واحدة) على وسط مناسب وتحت المزارع الناتجة تكون مصانة ثانية وتفيد كمادة بادئة للاستعمال اليومي، والمزرعة الأولية هي المستعملة لإنتاج

مزارع أولية "عملية" مرافقة عديدة، تُستعمل هذه الطريقة عندما يكون الثبات المديد للمزارع الأولية الأبوية مضموناً.

يجري الاصطفاء أولاً على كل محضّر لمزرعة أصلية، وتُستعمل المزرعة الأصلية البادئة من أجل مستعمرة ما أو نشر الأبواغ على صفيحة، ويكون الناتج عزلات لإعادة التلقيح فوق الآغار، وإن تباينت قابلية إنتاجها باستعمال الرجاج في المختبر، وتُحفظ العزلات ذات الإنتاج الأعلى، وكذلك فهذا الإجراء أفضل؛ لأنه الوحيد المستعمل في حال الانخفاض السريع في قابلية الإنتاج لظهور المستعمرة، فمثلاً: بعد نقل الأبواغ أو زرعها، فإن نقل الأبواغ كجزء من نشر السلالة قبل إنتاج المزارع المحفوظة لا يمكن تجنبه في الأحياء الدقيقة المتبوغة، وهذا الاصطفاء يجنّب التأثير السلبي لعملية النقل، وهنالك تأثير عكسي آخر لنقل الأبواغ في هذه الأحياء الدقيقة وهو الزيادة السريعة في التباين الوراثي التي تزيد إنتاج السلالة كلياً مرة أخرى.

ويجب التحقق من انعدام التلوث في كل دفعة من المزارع الأصلية المحفوظة، بعملية زرع تالية، واستعمال الرجّاج والحوجلة من أجل قابلية الإنتاج، إذا كان إنتاج السلالات بعد الصون والخزن معنوياً أي أقل من 95% مقارنة بالشاهد (السلالة قبل الخزن)، فإن إجراء الصون يكون غير مقبول.

575 تسجيل بيانات المزارع Registration of Culture Data

يجب تسجيل البيانات الواصفة للعزلات الصناعية جميعها المراد صونها ضمن مجموعة المزارع Culture Collections، كالاسم العلمي، ومصدره ومكان عزله، وتاريخ العزل واسم الوسط، واسم الخبير الفني الذي أجرى العمل وصفته، أما جهة الإشراف على المجموعة فتعنى بأي تغير يطرأ على العزلة وبسجل شامل لها، وكذلك وضع بطاقات خاصة لكل سلالة. كما يجب وضع سجل للعزلات جميعها وخواصها الشاملة في برنامج تعريفي خاص على الحاسوب، ويوضح الجدول 5-3 المجموعات العالمية من الأحياء الدقيقة.

الجدول 5-3 مجموعات الأحياء الدقيقة في العالم.

الموقع	المجموعة	
Kawasaki, Japan	Anijomoto Co.	AJ
Rockville, MD, USA	American Type Culture Collection	ATTC
Moscow, Russia	Vsesoyuznaya kollektsiya mikroorganismov	BKM
Baarn, The Netherlands	Centaalbureau voor Schimmelcultures	CBS
Brno, Czech Republic	Czech Collection of Microorganisms	CCM
Ottawa, Canada	Canadian Department of Agriculture	CDA
Paris, France	Collection de Institut Pasteur	CIP
Beckenham, UK	Borroughs Welcome Research Laboratories	CN
Kew, UK	Commonwealth Mycological Institute	CMI
Paris, France	Collection nationale de Culture de Microorganisms	CNCM
Braunschweig, Germany	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen	DSM
Zurich, Switzerland	Eidgenösische Technische Hochschule	ETH
Washington, DC, USA	Food and Drug Administration	FDA
Arcata, CA, USA	Fungal Genetic Stock Center, Hamboldt State College	FGSC
Sydney, Australia	Division of Food Research, CSIRO	FRR

يتبع الجدول 5-3

Tokyo, Japan	Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo	IAM
Osaka, Japan	Institute for Fermentation	IFO
Berlin, Germany	Institut für Mikrobiologie der Humboldt-Universität	IMB
Jena, Germany	Hans-Knöll-Institut für Naturstoff – Forschung e. V.	IMET
New Brunswick, NJ, USA	Institute of Microbiology, Rutgers, The State University	IMRU
Moscow, Russia	Institut mikrobiologii Akademii Nauk	INMI
New Delhi, India	Indian Type Culture Collection	ITCC
Aberdeen, UK	National Collection of Industrial Bacteria	NCIB
London, UK	National Collection of Type Culture	NCTC
Peioria, IL, USA	Northern Utilization Research and Development Division, US Department of Agriculture	NRRL
Wroclaw, Poland	Polish Collection of Microorganisms	PCM
Saskatoon, Canada	Prairie Regional Laboratory	PRL
Blackburg, VI, USA	Anaerobe Culture Collection, Virginia Polytechnic Institute and State University	VPI

580 الكشف عن المنتَجات Detection of Products

يمكن الكشف عن منتَجات التخمر، وتحليلها بطرائق عديدة، كالآتي:

أ. المقايسات الكيميائية الفيزيائية Physiochemical assays

1) الكثافة والثقل النوعي Density and specific gravity
2) التبخير والتقطير Evaporation and distillation
3) التحليل الحجمي والثقالي Volumetric and gravimetric analysis
4) قياس الرقم الهدرجيني pH- measurement
5) التحاليل بالإلكترودات إنتقائية الأيونات Selective ion electrodes
6) طرائق القياس بانكسار الضوء Refractometric methods
7) طرائق القياس بالاستقطاب الضوئي Polarimetric methods
8) التحليل بالمطيافية الضوئية Spectrophotometry
9) مقياسية العكر Turbidimetry
10) مقياسية التألّق Fluorometry
11) الاستخلاص Extraction
12) الكروماتوغرافيا Chromatography-
بالامتزاز Adsorption chromatography.
بالفصل Partion chromatography.
بالطبقة الرقيقة Thin-layer chromatography.
الغازية Gas chromatography.
السائلة Liquid chromatography.
13) التبادل الأيوني Ion exchange
14) الغربلة الجزيئية Molecular sieving أو الترشيح بالهلام Gel filtration

ب. المقايسات الحيوية Biological assays

تتضمن التحاليل التي يقوم فيها المركب المراد تقديره بحفز أو خفض نمو كائن الاختبار الحساس، والتحاليل التي تستعمل الإنزيمات، وهي عادة صعبة الأداء وذات أخطاء كبيرة وأقل تكرارية من التحاليل الكيميائية أو الفيزيائية، وأنماطها:

- ✓ المقايسات بالانتشار Diffusion assays.
- ✓ بقياس النمو والعكر Growth & Turbidimetric.
- ✓ بالاستجابة الاستقلابية Metabolic response.
- ✓ بالإنزيمات Enzymatic.

581 ضمان الجودة Quality Assurance

تصبح الأحياء الدقيقة مصدراً للخطر عندما تكون ممرضة فعلاً أو انتهازية، أو عند إنتاج الأنواع غير الممرضة بكميات ضخمة، بتأثير المنتَجات كالذّيفانات، والصادات الحيوية، والهرمونات Hormones، والمركبات الصيدلانية النفسية Psychopharmaceuticals، وكذلك بتأثير المركبات المستعملة من أجل عزل المنتَجات. تتضمّن منتَجات الأحياء الدقيقة بعض المراحل التي يمكن أن تمثّل مخاطر صحية لعمال الآلات، كالعمليات الآتية (Ginjaar 1980):

- ✓ استزراع الأحياء الدقيقة الممرضة وانفصالاتها (الضَبُوبَات Aerosols).
- ✓ إنتاج المركبات الصيدلانية كالصادات الحيوية (السلالات المقاومة Resistant).
- ✓ الهرمونات (الاضطرابات الاستقلابية Metabolic disturbances).
- ✓ الإنزيمات (الأرجيّات Allergies).
- ✓ المركبات الصيدلانية النفسية (الإدمانات Addictions).
- ✓ عمليّات عزل المنتَج باستعمال المواد الكيميائية ذات التأثير السام (المذيبات العضوية Organic solvnts).

ويبين الجدول 5-4 تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO للأحياء الدقيقة على أساس الضرر.

الجدول 5-4 تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO للأحياء الدقيقة على أساس الضرر.

متطلبات الحظر
المجموعة 1 للخطر ممارسات التصنيع الجيد في المجال الضخم خطر منخفض للأفراد والجماعات. الأحياء الدقيقة بعيدة احتمال التسبب بأمراض الإنسان أو أمراض الحيوان لأهميتها البيطرية.
المجموعة 2 للخطر المستوى1 للحظر خطر متوسط للأفراد، والجماعات المحددة. العامل الممرض الذي يمكنه التسبب بأمراض الإنسان أو أمراض الحيوان، ولكن بعيدة احتمال الضرر الجدي للعاملين في المختبر، وللمجتمع، للتدفقات أو البيئة. التعرض في المختبر يمكن أن يسبب أخماجاً جدية، ولكن المعالجة الفعالة والإجراءات الوقائية ممكنة وخطر الانتشار محدود، مثل: التسمم الغذائي بالسلمونيلة، واللقاحات والصادات الحيوية ممكنة.
المجموعة 3 للخطر المستوى2 للحظر خطر عال للأفراد، خطر منخفض للجماعات. العامل الممرض الذي يمكنه التسبب عادة بأمراض جدية للإنسان، ولكنها لا تنتشر عادة من فرد مصاب لآخر، الوقاية والمعالجة ممكنة.
المجموعة 4 للخطر المستوى3 للحظر خطر عال للأفراد والجماعات. العامل الممرض الذي يمكنه التسبب عادة بأمراض جدية للإنسان أو الحيوان، ويمكنه الانتقال من فرد لآخر، لا توجد وقاية أو معالجة، مثل: فيروس الإيبولا Ebola.

582 معالجة المخلفات Waste Treatment

ينتج عن معظم العمليات الصناعية مخلفات سائلة تحتوي كميات متفاوتة من الأملاح والمواد العضوية، وهي شبيهة تقريباً بمياه الصرف الصحي المنزلي في متطلبات معالجتها، ولذلك لا يجوز التخلص منها بطرحها مباشرة في الجداول أو الأنهار أو البحيرات بسبب محتواها العالي من المادة العضوية غير المتحللة.

يحتاج بعض المخلفات إلى معالجة إضافية خاصة، إذ تحتاج المخلفات إلى التعقيم في حال استعمال أحد العوامل الممرضة للأحياء النباتية أو الحيوانية، ومن الأفضل تعقيم المخلفات بحيث لا يترك مجال لمؤسسات صناعية منافسة عزل الأنواع المستعملة من المخلفات السائلة، إضافة إلى أن المخلفات السائلة شديدة الحموضة أو القلوية تحتاج إلى تعديل معالجتها.

ويستحسن في الوقت الحاضر إقامة مصانع التخمرات الصناعية التي تتمكن بوسائلها الذاتية من معالجة مخلفاتها بطريقة هوائية أو لاهوائية، وحتى تدوير المخلفات السائلة.

لا تزال طرائق معالجة المخلفات الصناعية والعامة دون المستوى المطلوب، كذلك فإن المخلفات التي يكون تحللها البيولوجي ضعيفاً أو تكون سامة للأحياء الدقيقة تؤدي إلى إعاقة عمليات المعالجة، وربما توقفها وتحتاج لمزيد من الدراسة.

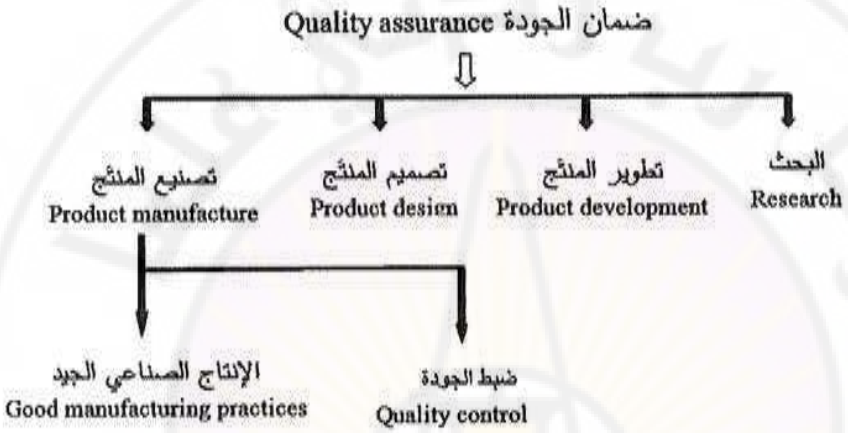
وتحتاج المياه المعالجة للدراسة والبحث من أجل إعادة استعمالها بصورة أكثر كفاءة في ري الأراضي الزراعية والغابات حفاظاً على البيئة والموارد الطبيعية.

تعد التخمرات الصناعية من المشروعات التجارية المربحة والمنافسة فيها شديدة وكبيرة، وقد يدخل ناتج التخمر إلى المنافسة في السوق مع ناتج مماثل منتج بعملية غير تخمرية أو ميكروبية.

ولكي يكون التخمر الصناعي منافساً ينبغي أن:

- يعطي إنتاجاً عالياً بأقل كلفة ممكنة.
- وكذلك يجب أن يكون استرجاع النواتج بصورة قابلة للبيع بطريقة عالية الكفاءة ولا تضيف كثيراً إلى تكاليف التخمر.

ولبيع أي ناتج تخمري لا بد من وجود طلب معين أو سوق للتصريف.



الشكل 5-5- مكونات ضمان الجودة.

أسئلة للمناقشة



- ما مضادات الرغوة؟.
- أوضح مفهوم: اللقح، والمزرعة الأولية، وصون المزرعة.
- قارن بين المزرعة ذات الدفعة الواحدة والمزرعة المستمرة.
- عدد أهم المصادر الطبيعية لاستزراع الأحياء الدقيقة الصناعية.
- ما أهم المواد الإضافية اللازمة لتنمية الأحياء الدقيقة الصناعية؟.
- عدد أهم مصادر الكربون اللازمة لتنمية الأحياء الدقيقة الصناعية.
- ماذا يجب أن نأخذ في الحسبان عند اختيار الوسط الغذائي المناسب؟.

المراجع References

- **أحمد، محمد علي – النواوي، محمد عبد الرزاق (1999).** الفطريات الصناعية. الدار العربية للنشر والتوزيع، مدينة نصر.
- **ساجدي، عادل جورج – محمد علي، علاء يحيى (1987).** الميكروبيولوجيا الصناعية، الجزء الأول، أساسيات التخمرات الصناعية، جامعة البصرة.
- **طه، الشحات محمد رمضان – جمال، راوية فتحي (2005).** ميكروبيولوجيا التخمرات، الطبعة الأولى، دار الفكر العربي، مدينة نصر، القاهرة.

- **Anonymous (1985).** Process Biochem. 6, X.
- **Daily W., Higgins C., (1973).** Cryobiology 10, 364.
- **Dietz A., Churchill B., (1985).** Culture preservation and stability. In: Comprehension Biotechnology, Vol. 2, New York.
- **Ginjaar L., (1980).** Biotechnol. Lett. 2, 153.
- **Heckley R., (1978).** Adv. Appl. Microbiology. 24, 1.
- **Marx D., Daniel W., (1976).** Can. J. Microbiol. 22, 338.
- **Nisbet L., (1982).** J. Chem. Tech. Biotech. 32. 251.
- **Okafor N., (2007).** Modern industrial Microbiology and Biotechnology. Clemson University, Clemson South Carolina USA. Science Publishers.
- **Pavlasova E., Stejskalova E., Sikyta B,. (1986).** Biotechnol. Lett. 8, 415.
- **Sikyta B., (1995).** Progress in Industrial Microbiology. Vol.31, Charles University, Hardec Kralove, Czech Republic. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo.

Damascus University

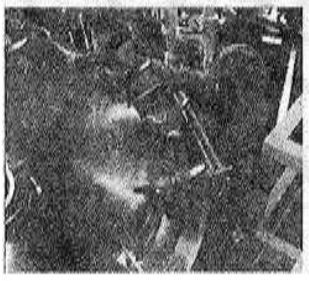
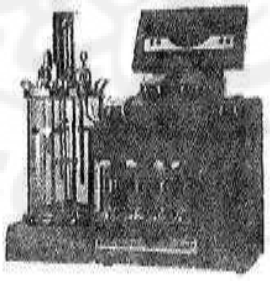
600

إنتاج المكونات الخلوية والمواد الفعَّالة حيوياً

Production of Cell Components and Bioactive Substances

يتوقع من المتعلم في نهاية الفصل أن يكون قادراً على أن:

- يحدّد بعض أساليب إنتاج الأحياء الدقيقة الصناعية.
- يسلسل مراحل إنتاج الفيتامين B_{12}.
- يقارن بين مصادر البروتياز واستعمالاتها.
- يربط بين عدد من الإنزيمات التجارية ومصادرها الحيوية.
- يوضح أهمية التخمر البروبيوني.
- يذكر عدداً من أنواع الأحياء الدقيقة المنتِجة للمواد المهمة صناعياً.
- يقدّر أهمية الأحياء الدقيقة في تلبية متطلبات التنمية من المكونات والمواد.


مفاهيم مفتاحية

□ **عديدات السكر Polysaccharides**

بوليمرات من وحدات أحادية السكر، توجد حرة أو في معقدات، داخلية أو خارجية، بنسبة 20 – 60% وأكثر، شديدة التنوع في الأحياء الدقيقة.

□ **الإنزيمات Enzymes**

منتَجات حيوية لها بنية بروتينية عادة، تنشط التفاعلات الكيميائية داخل الخلية وخارجها، وزنها الجزيئي 50 – 880 ألف دالتون، عطوبة بالحرارة، ترتبط ارتباطاً وثيقاً مع التفاعلات المحددة لظاهرة الحياة.

□ **الكاروتينويدات Carotenoids**

مركبات حرة أو معقدة، تنتجها النباتات، والطحالب، والجراثيم ضوئية التغذية وكيميائية التغذية، واسعة الانتشار وذات أنماط متباينة.

□ **الجبرلينات Gibberellins**

منتجات ثانوية تفيد كعوامل نمو، تنتج النباتات خمسة أنواع منها ولكن الفطريات تنتج نحو 40 نوعاً، يتميز بعض سلالات الأعفان الممرضة للنباتات من النوع *Fusarium moniliforme* بإنتاج الجبرلين A3.

□ **الفيتامينات Vitamins**

مركبات عضوية منخفضة الجزيئة، لها تأثير متباين وشديد بتراكيز منخفضة جداً، يمكن الحصول عليها من النباتات والأحياء الدقيقة، مثل: k, A, B_{12}.

□ **الشحوم Lipids**

مواد دسمة غنية بالطاقة، تنتجها أعضاء الكبد والبنكرياس، أو النباتات، أو الأحياء الدقيقة، ولاسيما الجراثيم، التي تكون مصدراً مهماً لها.

□ **بروتين الخلية المفردة Single Cell Protein SCP**

بروتين تُنتجه خلايا الجراثيم والفطريات والطحالب مفردة الخلية، له قيمة غذائية عالية؛ ويمكن استعماله في أغذية الإنسان أو علفاً للحيوانات.

بوليمرات من المكونات الحتمية في الأحياء، تتكون من 11 من وحدات أحادية السكر Monosaccharide على الأقل (وقد تسمى الغليكانات Glycans)، وتوجد حرة أو في معقدات مع الحموض النووية، والبروتينات، والشحوم، والفُسفات، متنوعة جداً في الأحياء الدقيقة التي قد توجد فيها وحدات سكر مجهولة، وتكون: سكريات متجانسة أو غير متجانسة homosaccharides or heterosaccharides، وتقسم عديدات السكر في الأحياء الدقيقة إلى نمطين:

❖ **عديدات السكر داخل الخلوية Intracellular Polysaccharides**

توجد في السيتوبلاسما والغشاء السيتوبلاسمي والجدار الخلوي في الأحياء الدقيقة.

☺ في السيتوبلاسما: توجد عديدات السكر بمعدل 20 – 30% عادةً، وفي الظروف الملائمة تبلغ 50 – 60% من الكتلة الجافة للخلية، متجانسة غالباً، وأهمها الغليكوجين، في الجراثيم: *Agrobacterium, Bacillus, Clostridium, Nostoc, Streptococcus*، وفي الخمائر والفطريات الخيطية وبعض الطحالب، ويمكن أن يوجد النشاء والمنّان والليفان والأرابان والزيلان.

☺ في الغشاء السيتوبلاسمي: توجد عديدات السكر بمعدل 2 – 5% في المتوسط مرتبطة مع الدهون أو البروتينات، وفي الجراثيم الحقيقية +Gr، غالباً ما يوجد حمض التيكوئيك (1 – 2% من الكتلة الحيوية الجافة) وهو سكر حمضي.

☺ في الجدار الخلوي: توجد عديدات السكر في الجراثيم الحقيقية الموجبة بصبغة غرام بمعدل 30 – 60% من الكتلة الجافة للجدار الخلوي، ويدخل جزء ملموس في تركيب المورين الذي يبلغ 50 – 90% من مواد الجدار، حمض المورامیك، وتوجد بمعدل 1 – 50% في الجدار الخلوي للجراثيم السالبة بصبغة غرام، وتكون مميزة لعديدات السكر الشحمية، وعديدات السكر مكون أساسي للجدار في الخمائر والفطريات الخيطية، وأهم المركبات: الغلوكان والكيتين.

❖ عديدات السكر خارج الخلوية Extracellular Polysaccharides

توجد عديدات السكر الخارجية في المحفظة والغمد والمخاط الحر غير المتوضع على الجدار، وتكون متباينة بالتركيب والبنية، وقد درس أكثر من 200 نوع منها، ويدخل فيها 20 من وحدات السكر على الأقل، وأهمها:

○ الهكسوزات	الغلوكوز، والغالاكتوز، والمانوز.
○ 6-ديزوكسي هكسوزات	الفركتوز، والرامنوز.
○ وبصورة أقل البنتوزات	

وينتشر فيها الحمض اليورونيك Uronic، وفي كثير منها سكريات أمينية، وتنتشر عديدات السكر المتجانسة على نحو واسع، مثل: الغلوكانات كالدكستران.

611 الدكستران Dextran

يمثل الدكستران (أو الدكسترانات Dextrans) مجموعة من عديدات السكر الجرثومية، مكونة غالباً من وحدات متتالية من α-D-glucopyranose ترتبط بروابط غليكوزيدية 1،6، وهي متباينة بدرجة تفرعها.

يُنتج الدكستران أنواع من الجراثيم مثل:

Leuconostoc mesenteroides,
Leuc. dextranicum

وكذلك بعض سلالات الفصيلتين:

Lactobacillaceae
Streptpcoccaceae

للدكستران تطبيقات واسعة، كبديل لبلاسما الدم وفي علاج نقص الحديد في الإنسان، وفي الصناعات الدوائية ومعاجين الأسنان وصناعة خيوط العمليات الجراحية وعمليات طلاء المعادن والاستخلاص الثانوي للنفط وغيرها.

612 الزانتان Xanthan

مادة صمغية منحلة في الماء مكونة من عدد من المركبات السكرية، غير سامة، تنتجها جراثيم *Xanthomonas campestris* بتنميتها كمزارع مغمورة، وإنتاجها نحو 25 ألف طن سنوياً في الولايات المتحدة وأوروبة واليابان، تستعمل في صناعة الأدوية، ومستحضرات التجميل، وصناعة الورق، والدهانات، والنسيج، واستخلاص النفط، وفي صناعة المربى، والآيس كريم، والعصائر.

613 الألجينات Alginate

تُستعمل الألجينات - بسبب خواصها الهلامية - في صناعة الهلاميات، والآيس كريم، وكمحسنات لطعم بعض المواد الغذائية، وفي تغليف بعض الحلويات، وفي صناعة الأدوية، وعلى الرغم من أن الطحالب البحرية البُنيَّة مصدر الألجينات التجارية اليوم، فإن الجراثيم تفيد في إنتاجها، مثل:

Pseudomonas aeruginosa, Ps. putida, Ps. phaseolicola, Ps. fluorescens

وكذلك النوع *Azotobacter vinelandii*.

614 الكوردلان Curdalan

عديد سكر بسيط مكون من الغلوكوز، عديم الانحلال في الماء، ينتجه النوع الجرثومي: *Alcaligenes faecalis var. myxogenes*.

615 السكلروغلوكان Scleroglucan

عديد سكر من وحدات الغلوكوز المرتبطة معاً بروابط غليكوزيدية، يستعمل في إنتاج الغذاء واستخلاص النفط. تنتجه على وسط فيه مواد ليغنوسليلوزية الأنواع:

Sclerotium glucanicum, Scl. delphinii, Scl. rolfsii, Helotium

616 البولولان Pullulan

غلوكان يرتبط بروابط غليكوزيدية، ينتجه الفطر *Aurebasidium pullulans* (*Pullularia pullulans*)، وأنواع من الجراثيم المنتجة للبولولاناز.

620 الإنزيمات Enzymes

621 صفات الإنزيمات Properties of Enzymes

يتراوح الوزن الجزيئيّ للإنزيمات بين 15 - 800 ألف دالتون، وهي ذوّابة بالماء، عطوبة بالحرارة إذ تتخرّب في الدرجة 55 س°، كما تتخرّب بالأشعّة فوق البنفسجيّة، ولها نمطان:

- الإنزيمات الداخليّة Endoenzymes التي تقوم بعمليّات البناء، وتبقى ضمن الخليّة الجرثوميّة.
- الإنزيمات الخارجيّة Exoenzymes التي تُطرح في الوسط الخارجيّ، وتقوم بعمليّات الهدم وتفكيك الجزيئات العضويّة الكبيرة، مثل: البروتينات وعديدات السكّر والشحوم.

ويمكن تقسيم الإنزيمات، وفقاً لمراحل حياة الخليّة وشروط الوسط، إلى:

إنزيمات التكوين Constitutive enzymes الضروريّة للخليّة باستمرار.

وإنزيمات التكيّف Adaptive enzymes التي تُفرز لمقاومة العوامل الخارجيّة.

وإنزيمات التطفّر Mutative enzymes التي تنشأ بتأثير المطفرات.

تعتمد العمليات الميكروبيولوجية الصناعية على الاستفادة من عدد كبير من الإنزيمات التي تنتجها الأحياء الدقيقة، وقد تستعمل الإنزيمات في صورتها الخام فتكون أقل تكلفة، ولكن ذلك يتطلب تدابير معينة بهدف تقليل نشاط المُنتَجات الأخرى غير المرغوب فيها، مثل H_2O_2، إن وجدت في المحلول الإنزيمي.

تنتج الأحياء الدقيقة أنواعاً كثيرة من الإنزيمات المفككة للمركبات المعقدة الموجودة في الطبيعة، غير أن عدداً قليلاً منها ينتج تجارياً.

يوضح الجدول 6-1 مصادر الإنزيمات من أنواع الأحياء الدقيقة، ومجال استعمالها الصناعي.

الجدول 6-1 مصادر الإنزيمات الصناعية، ومجال استعمالها.

الإنزيم	مجال استعماله	مصدره من الجراثيم والفطريات
α-amylase	تفكيك المُلت	*Bacillus amyloliquefaciens* *Bac. lichinformis* *Aspergillus oryzae* *Asp. niger*
Glucoamylase	صناعة الملت	*Asp. niger* *Asp. oryzae* *Asp. awamori*
amyloglucosidase	صناعة الدكستروز من النشاء والغلوكوز الغذائي	*Aspergillus niger*
Pullulanase	النشاء الخالي من المجاميع الجانبية	*Klebsiella pneumoniae* *Aureobasidium pullulans*
glucosoisomerase	صناعة السكر عالي الفركتوز	*Actinoplanes missouriensis* *Mucor spp.*
β -glucanase	صناعة البيرة والتصنيع الغذائي	*Bac.amyloliquefaciens* *Aspergillus niger* *Penicillium emersonii*
Invertase	صناعة الحلويات (ذات القلب الرخو)	*Aspergillus niger* *Sacch. cerevisiae*
Cellulase	حلمهة السليلوز	*Aspergillus niger* *Trichoderma viride* *T. roseum*

يتبع الجدول 6-1

Aspergillus niger	صناعة النبيذ من الفواكة	Pectinase
Asp.oryzae	أغذية، ونكهة، ومنظفات	Protease I,II
Asp. spp. *Candida cylindrical* *Rhizopus sp.*	تفكيك الدهون	Lipase
Asp. niger *Penicillium vitale* *P. notatum*	في بعض عمليات التصنيع الغذائي والتحليل الاختباري للأغذية	Glucose oxidase
Aspirgillus	في بعض عمليات التصنيع الغذائي والتحليل الاختباري للأغذية	Catalase
Escherichia coli		Aspartase
E. coli		Fumarase
Penicillium chrysogenum	إنتاج البنسلين شبه تركيبي	Pencillin acylase

ويمكن إنتاج مثل هذه الإنزيمات على المدى القريب وفي المستقبل المنظور اعتماداً على ازدياد تخمر المخلفات العضوية.

تنتج غالبية الأحياء الدقيقة أكثر من نمط من الإنزيمات عند نموها، وبعضها الآخر لا يفرز أي نمط من الإنزيمات الخارجية، وقد تحتوي التحضيرات الإنزيمية المستخلصة شوائب تعوق عملية التنقية، وقد يكون تحقيق التوازن بين وفرة الإنتاجية من الإنزيمات وسهولة تلك الإنزيمات وقابليتها للاستخلاص والتنقية أمراً مهماً.

ومن أهم العوامل التي تؤثر في تركيب الإنزيمات:

1) المكونات الغذائية في وسط التخمر ومصادر الطاقة.
2) فترة النمو ومراحل نمو الأحياء الدقيقة.
3) رقم الهدروجين pH.
4) درجة الحرارة.
5) التهوية.
6) تباين السلالات Strain variation: تتباين قدرة الأحياء الدقيقة لإنتاج الإنزيمات الخارجية وفقاً لاختلاف السلالات في النوع الواحد وفي الأنواع المختلفة، وتتراوح الإنتاجية بين الصفر والإنتاج الوافر، وقد تنتج سلالة معيّنة إنزيمات تكوينية، بينما تنتج سلالة أخرى مجموعة إنزيمات أخرى من النوع المحرّض Inducible.

622 الأميلاز Amylases

ترجع أهمية مجموعة الأميلاز إلى دورها في تفكيك النشاء إلى سكريات بسيطة، فهي تستعمل في الصناعات الغذائية، والنشاء مركب معقد من الغلوكوز واسع الانتشار في النباتات، ويمكن استعمالها في عمليات معالجة المخلفات الزراعية والاستفادة منها، وتشمل الإنزيمات الآتية:

α-amylase, ß-amylase, Glucoamylase, Isoamylase, ullulanase.

□ ألفا الأميلاز α-amylases (1,4-α-glucan-glucanhydrolase)

تفيد في تفكيك الرابطة الغليكوزيدية ألفا- 4,1 في النشاء فيتفكك الجزيء داخلياً، ولكنها لا تؤثر في الرابطة الغليكوزيدية 6,1، ولها نمطان بحسب ناتج العملية:

- الأميلاز السكرية Saccharogenic amylase التي تُنتج سكريات حرة عند تفكيك النشاء.
- الأميلاز المسيّلة للنشاء Starch liquefying amylase التي تُنتج مركبات أقل تعقيداً من دون تكوين سكريات حرة.

يمكن للعديد من أنواع الجراثيم والفطريات أن تفرز الأميلاز خارجياً، وتتباين فيما بينها بدرجة تفكيك النشاء وقيم رقم الهدروجين المناسبة للوسط، والمدى الحراري الملائم لنشاطها الحيوي.

تنتج أنواع عديدة من الجراثيم α-amylase، مثل الآتي:

<u>*Bacillus*</u>:

B. subtilis, B. cereus, B. amyloliquefaciens, B. coagulans, B. polymyxa, B. stearothermophilus, B. caldolyticus, B. acidocaldarius, B. subtilis var . amylosaccharaticus, B. licheniformis

Lactobacillus, Micrococcus, Pseudomonas, Arthrobacter, Escherichia, Proteus, Thermomonospora , Serratia.

تنتج α-amylase أنواع عديدة من الفطريات تنتمي إلى الأجناس الآتية:

Aspergillus, Penicillium, Cephalosporium, Mucor, Candida, Neurospora, Rhizopus.

وتحتاج هذه الإنزيمات إلى شوارد الكلسيوم لثبات عملها والحفاظ خواصها الكيميائية والفيزيائية.

غير أن الاستعمال التجاري للإنزيمات الجرثومية أكثر بكثير من الإنزيمات التي تنتجها الفطريات، ولاسيما أنواع الجنس *Aspergillus*، فمثلاً، تُستعمل إنزيمات α-amylase التي تنتجها جراثيم *Bacillus* في:

معالجة النشاء	إنتاج الغلوكوز والمالتوز والفركتوز.
صناعة الكحول	تفكيك النشاء قبل إضافة المولت.
صناعة الجعة (البيرة)	تفكيك المواد النشوية المضافة.
صناعة السكر	تحسين قدرة محاليل سكر القصب على الترشيح.
صناعة الورق	تفكيك النشاء من دون إنتاج سكر لاستعماله كمادة لاصقة
صناعة الأنسجة	إزالة النشاء في درجات الحرارة العالية بالطريقة المستمرة
صناعة الأعلاف	تحسين الاستفادة الغذائية.
صناعة المنظفات الصناعية	زيادة القدرة على إزالة المواد النشوية، ولاسيما في غسالات أطباق المائدة.

أما إنزيمات الفطريات، فتستعمل لتحسين حبوب بعض سلالات القمح التي تتميز بخلوها منها؛ مما يفيد في صناعة الخبز ومنتجاته، وتستعمل كذلك في صناعة الجعة لزيادة القدرة التخمرية لحبوب الشعير المستعملة، ولتحسين صفات الجِعة، وفي تفكيك النشاء قبل إضافة الملت في صناعة الغول.

□ بيتا الأميلاز β-amylases (α-1,4-glucan-maltohydrolase)

هذه منتجات نباتية أساساً، غير أن العديد من الأحياء الدقيقة يمكنه إنتاجها، مثل: بعض جراثيم الجنس *Bacillus* كالأنواع: *B. polymyxa*، *B. cereus*، *B. megaterium*، والأجناس *Pseudomonas, Streptomyces*، وبعض الفطريات كالنوع *Rhizopus japanicus*.

تؤدي فاعلية β-amylases على النشاء إلى إنتاج المالتوز؛ إضافة إلى بعض الدكسترينات، والمدى الحراري لنشاطها 37 – 55 س°، ورقم الهدروجين 6 – 7.

□ الغلوكوأميلاز glucoamylase (α-1,4-glucanglucohydrolase)

تفيد في فصل وحدات الغلوكوز من جزيء النشاء من نهايته غير المرجعة، إلا أن تأثيرها في تفكيك المالتوز بطيء؛ بسبب عدم قدرتها على تفكيك الرابطة الغليكوزيدية 1،6، ويكون الناتج الغلوكوز والمالتوز وبعض الدكسترينات.

يمكن للعديد من أنواع الفطريات أن ينتج الغلوكوأميلاز مثل:

Aspergillus niger, Asp. oryzae, Asp. awamori
Rhizopus niveus, Rh. delemar, Rh. formosaensis, Rh. javanicus

وينتج بعض السلالات مماكبات لهذه الإنزيمات تكون غير فاعلة في تفكيك النشاء الخام، مثل: *Aspergillus awamori* var. *kawachi*؛ ولذلك يجب الاهتمام بتحديد طبيعة الإنزيمات الناتجة، ويجب أن يحتوي الوسط النشاء الذي يحرض الإنزيمات على النشاط، وبالعكس فالغلوكوز والحمض الغلوتامي واللاكتوز تثبّط نشاط هذه الإنزيمات، وتتراوح فترة الإنتاج 3 – 5 أيام في 28 – 35 س°، وفقاً لسلالة الفطر، وقد ينتج بعض السلالات ألفا-الأميلاز في الظروف ذاتها.

□ الإنزيمات المفككة للرابطة الغلوكوزيدية 1،6
1,6-glucoside – splitting enzymes

لها نمطان، بحسب أسلوب العمل:

- النمط الأول الذي يعمل بصورة مباشرة على الأميلوبكتين، مثل:

Pullulanase التي تحلل البولولان، وتنتجها *Pullularia pullulans*

من الفطريات، بينما تنتجها أنواع الجراثيم:

Bacillus polymyxa, Streptomyces, Streptococcus
Pseudomonas amyloderamosa, Ps. saccharophila,

Isoamylase، تنتجها أجناس الجراثيم:

Agrobacterium, Erwinia, Staphylococcus, Serratia, Nocardia, Lactobacillus, Bacillus, Pediococcus, Leuconostoc.

- النمط الثاني الذي يعمل بصورة غير مباشرة بعد التعديل الإنزيمي الذي تقوم به إنزيمات الأميلاز الأخرى.

623 البروتياز Proteases

تقع هذه الإنزيمات في المقام الثاني بعد إنزيمات Amylases من حيث إنتاجها تجارياً بالعالم، إذ يبلغ معدل الإنتاج نحو 500 طن/سنة (محسوب على أساس البروتين النقي)، وتستعمل هذه الإنزيمات في صناعة المنظفات وصناعة الأدوية، والجلود، والأغذية، والأفلام الحساسة، وصناعة البروتين المتفكك، ومعالجة المخلفات العضوية البروتينية، ولها أنماط مختلفة:

□ البروتياز القلوي Alkaline protease

على الرغم من قدرة بعض الفطريات على إنتاج البروتياز القلوي، إلا أن معظم الإنتاج التجاري يعتمد على أنواع جراثيم الجنس *Bacillus* الذي يستعمل في صناعة المنظفات الصناعية، مثل:

B. licheniformis, B. amyloliquefaciens, B. firmus, B. pumilus, B. megaterium,

كما يجري إنتاجه بفعل أنواع من الجنس *Streptomyces*، مثل:

Strept. fradiae, Strept. griseus, Strept. Rectus

ومن بعض فطريات الجنس *Aspergillus*: *Asp. niger, Asp. flavus, Asp. oryzae, Asp. sojae*، وتنتج جراثيم *Bacillus* العديد من الإنزيمات المستعملة اليوم في المنظفات.

تتصف الإنزيمات الجرثومية بالثبات في الحرارة المرتفعة، وبوجود المواد الممخلبة ومدى واسع من قيم pH 9 – 11. تحوّل الإنزيمات المنتَجة إلى حبيبات جاهزة للاستعمال في صناعة المنظفات الصناعية، وبسبب استنشاقها الحساسية.

يمكن إزالة الشعر depilation بالإنزيمات باستعمال Alkaline proteases التي تنتجها عزلات من الفطر *Aspergillus flavus*، والتخمر الصلب أكثر فاعلية مقارنة بالتخمر المغمور، ويُستفاد من هذه الطريقة في إزالة الشعر من جلود الحيوانات مما يصون البيئة من التلوث الناتج عن استعمال كبريت الكلسيوم Calcium Sulphide التقليدي في الدباغة وصناعة الجلود.

□ البروتياز المتعادل Neutral proteases

تنتج الفطريات *Aspergillus oryzae, Asp. sojae* البروتياز المتعادل، وكذلك الجراثيم *Bacillus cereus*، *B. subtilis*، *B. megaterium*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Streptomyces griseus*، وهي ثابتة في pH متعادل ودرجة حرارة 35 – 45 س°، ويثبطها القلوي، واستعمالها محدود.

□ البروتياز الحمضي Acid protease

تنتج الفطريات البروتياز الحمضي، وتستعمل عوضاً عن إنزيمات المنفحة، وفي هضم بروتينات فول الصويا وغيرها، وتعمل في قيم رقم الهدروجين 2 – 4، وتستعمل في الطب، وينتج بعض سلالات الفطريات *Apergillus* هذه الإنزيمات التي تُستعمل في تحليل غلوتين القمح في عمليات الخَبْز فيحسّن جودة المنتَجات.

وتُنتج فطريات *Aspergillus oryzae* إنزيمات Takadiastase تجارياً في اليابان، وهي خليط من عدة إنزيمات، أهمها: α-amylase و acid protease، وتُستعمل كعامل مساعد للهضم، وفي صناعة منتجات الخبز.

624 الأنفحة Renin

يتخثر الحليب بفعل الجراثيم الموجودة طبيعياً في الحليب لتكوين الجبن، حيث تنتج الجراثيم حمض اللاكتيك الذي يخفض رقم الهدروجين إلى نقطة التعادل الكهربائي للكازيين، الأمر الذي يجعله يترسب في هيئة خثرات سهلة الفصل عن الشرش، وتُستعمل مزارع جرثومية كبادئ لتحويل لاكتوز الحليب إلى حمض اللاكتيك، مثل:

Streptococus lactis, S. cremoris, S. thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, L. helveticus.

ويتعلق الإنتاج (نوعية الخثرة المطلوبة) بالسلالة والطعم، وكمية الغاز الناتج في التخمر، ورقم الهدروجين، والتحسس للعاثيات، ويسمى الإنزيم النقي الرينين أو الكيموسين.

ومن أهم الأحياء الدقيقة المستعملة في الإنتاج التجاري:

من الجراثيم:

Alcaligens, Bacillus, Corynebacterium, Lactobacillus, Pseudomonas, Serratia, Streptococcus, Streptomyces.

ومن الفطريات:

Aspergillus, Candida, Mucor, Penicillium, Rhizopus, Sclerotium, Torulopsis

625 البكتيناز Pectinases

يتكون البكتين من وحدات حمض الغالاكتوروني ترتبط معاً بروابط α-1،4، وترتبط زمر الكربوكسيل في أغلبها (95%) من هذه الوحدات بالميتانول برابطة إسترية methyl esterification.

تتكون Pectinases من ستة أنماط تهاجم جزيء البكتين من جوانب عدّة، ويجري تعيينها وفقاً لنقاط تأثيرها في الجزيء، فمثلاً:

تنزع Pectinesterase زمر الميتيل، وتفكك endo-polygalacturonase أو exo-polygalacturonase الروابط الغليكوزيدية بين وحدات سلسلة البكتين، وتفكك Pectate lyase الفطرية أو الجرثومية الروابط الغليكوزيدية.

وتُستعمل الفطريات على نطاق واسع في إنتاج هذه الإنزيمات تجارياً، مثل: بعض سلالات *Aspergillus niger, Asp. wentii* وبعض أنواع *Rhizopus*.

تُستحصل Pectinases بسهولة عن طريق تثفيل الوسط في نهاية الحضن أو بالترشيح، ثم ترسيب الإنزيمات بالمذيبات العضوية، والتجفيف، ويمكن استعمالها مباشرة.

لهذه الإنزيمات تطبيقات صناعية مهمة، في ترويق العصائر، وإزالة المواد العالقة، وفي استخلاص زيت الزيتون.

626 الليباز Lipases

تفكك إنزيمات Lipases (glycerol ester hydrolae) الشحوم إلى غلسريدات أحادية أو ثنائية، وحموض دسمة، ويتصف العديد من الفطريات، كالأجناس *Rhizopus, Aspergillus, Mucor, Penicillium, Geotrichum* والخميرة *Candida, Torulopsis* بإفراز هذه الإنزيمات خارجياً (غالبيتها).

تضاف مادة دهنية أو زيتية مناسبة إلى الوسط لتحفيز إنتاج هذه الإنزيمات، وإن كانت أحياناً تثبط الإنتاج، وكذلك يثبطه وجود الغليسرين أو الغلوكوز.

تستعمل هذه الإنزيمات في صناعة الأدوية، وفي صناعة الجبن، ولتفكيك بقايا الشحوم والزيوت في صناعة المنظفات الصناعية.

لقد أنتجت إنزيمات Lipolase في عام 1988 كأول إنزيمات مفككة للشحوم تُنتج تجارياً بالعالم، وتستعمل في أغراض التنظيف، وتعمل هذه الإنزيمات بكفاءة عالية في درجات الحرارة المنخفضة (نحو 30 س°).

أنتج مسحوق الغسيل Hi-Top lipolase للمعالجة بالإنزيمات في اليابان، وتعدّ الإنزيمات المفككة للشحوم Lipolase الأولى التي استُعملت في التنظيف، وتستعمل طريقة الدنا المؤشب Recombinant DNA لهذا الغرض، حيث نُقلت مورثة مناسبة إلى الفطر *Aspergillus oryzae* الذي ينمو جيداً وينتج كمية كبيرة من هذه الإنزيمات.

627 تثبيت الإنزيمات Stabilization of Enzymes

تكون الإنزيمات النقية غير قابلة للخزن فترة طويلة بكفاءة عالية؛ لذلك يجب صونها من تأثير العوامل الحيوية والفيزيائية والكيميائية، وهي عملية مكلفة، ويمكن تحقيق ذلك عن طريق: إضافة بعض المواد الكيميائية أو إجراء تعديل على تركيبها الكيميائي، ويمكن ربط جزيئاتها معاً، وكذلك تحميلها على حوامل أو خلايا ما ككل، أو بتغليفها ضمن محافظ من أغشية شبه نفوذة.

628 مصادر الإنزيمات Sources of Enzymes

يمكن استخلاص الإنزيمات النشطة حيوياً من أي كائن حي (الجدول 6-2)، ويُستعمل معدل واسع من المصادر لإنتاج الإنزيمات التجارية من *Actinoplanes* إلى *Zymomonas*، من السبانخ إلى الأفعى السامة، ويجري الحصول على نصف الإنزيمات من الفطريات والخمائر، وأكثر من الثلث يأتي من الجراثيم، والباقي من المصادر الحيوانية (8%) والنباتية (4%).

ويُستعمل عدد كبير جداً من الإنزيمات في التحاليل الكيميائية والتشخيص السريري، وتزود المصادر غير الميكروبيولوجية بالقسط الأكبر منها، اليوم، ولكن تُفضّل الأحياء الدقيقة كمصادر للإنزيمات للأسباب الآتية:

- هي عادة أرخص عند الإنتاج.
- تكون مكوناتها الإنزيمية قابلة للتنبؤ والضبط.
- الإمدادات موثوقة للمواد الخام بتركيبها الثابت، وتكون أكثر سهولة في الترتيب.
- تتضمن النسج النباتية والحيوانية مواد ضارة كامنة مما عليه الأحياء الدقيقة، بما فيها المركبات الفينولية (من النباتات)، والمثبطات الإنزيمية الداخلية والبروتياز، وهنالك محاولات للتغلب على ذلك باستعمال المزارع الخلوية الحيوانية والنباتية.

630 الشحوم Lipids

تتميز الشحوم والزيوت بأهمية كبيرة في المواد الغذائية، حيث يزداد الطلب عليها باستمرار، وقد لفتت الأحياء الدقيقة الانتباه لتحقيق هذا الغرض بتركيبها الكيميائي ومحتواها من الشحوم، مثل:

Rhodotorula gracilis
Cryptococcus terricolus
Aspergillus terreus
Chaetomium globosum
Lipomyces starkeyi, Lipomyces lipofer

الجدول 6-2 بعض الإنزيمات الصناعية المهمة ومصادرها.

الإنزيمات		المصدر	دا/خا	الإنتاج	الاستعمال الصناعي
الإنزيمات الحيوانية	الكتلاز	الكبد	دا	-	الغذاء
	الكيموتريبسين/ تريبسين	البنكرياس	خا	-	الجلد
	الليباز	البنكرياس	خا	-	الغذاء
الإنزيمات النباتية	الأكتينيدين	ثمار الكيوي	خا	-	الغذاء
	ألفا وبيتا أميلاز	الشعير المنقوع	خا	+++	تخمير الجعة brewing
	الفيسين ficin	اللبن النباتي	خا	-	الغذاء
	بابائين	لبن Pawpaw	خا	++	اللحم
الإنزيمات الجرثومية	ألف أميلاز	*Bacillus*	خا	+++	النشاء
	بيتا أميلاز	*Bacillus*	خا	+	النشاء
	الأسبراجيناز	*Escherichia coli*	دا	-	الصحة
	الغلوكوز إيزوميراز	*Bacillus*	دا	++	مركز الفركتوز (syrup)
	البروتياز	*Bacillus*	خا	+++	المنظفات
	البولولناز	*Klebsiella*	خا	-	النشاء
الإنزيمات الفطرية	ألف أميلاز	*Aspergillus*	خا	++	الخبز
	غلوكوأميلاز	*Aspergillus*	خا	+++	النشاء
	الكتلاز	*Aspergillus*	دا	-	الغذاء
	السليلاز	*Trichoderma*	خا	-	المخلفات
	الغلوكوز أكسيداز	*Aspergillus*	دا	-	الغذاء
	اللكتاز	*Aspergillus*	خا	-	الألبان
	الليباز	*Rhizopus*	خا	-	الغذاء
	البكتيناز	*Aspergillus*	خا	++	المشروبات
	البروتياز	*Aspergillus*	خا	+	الخبز
إنزيمات الخمائر	الإنفرتاز	*Saccharomyces*	دا/خا	-	الحلويات
	اللكتاز	*Kluyveromyces*	دا/خا	-	الألبان
	الليباز	*Candida*	خا	-	الغذاء
	الرافينياز	*Saccharomyces*	دا	-	الغذاء

+++ > 100 ton year^{-1}; ++ > 10 ton year^{-1}; + > 1 ton year^{-1}; - < 1 ton year^{-1}.

دا/ داخلية، خا/ خارجية.

ويدفع الوسط الفقير بالنتروجين الأحياء الدقيقة، كالأعفان والخمائر، إلى خفض معدل تركيب البروتين؛ وبالتالي خفض معدل نمو الخلايا وتركيب الشحوم؛ أي أن تكون نسبة C/N عالية، فيزداد عمر الجيل وتنخفض إنتاجية الكتلة الحيوية.

ومن المواد الشحمية الموجودة في الفطريات خصوصاً:

ثلاثيات الغلسريدات Triglycerides

أحاديات الغلسريدات Monoglycerides

ثنائيات الغلسريدات Diglycerides

الشحوم الفسفورية Phospholipids

الستيرولات Sterols وإسترات الإستيرول Esterol ester

الحموض الدسمة Fatty acids والهدروكربونات Hydrocarbons

ويحتوي الزيت من الحموض:

حمض الأوليك Oleic acid

حمض اللينوليك Linoleic acid

حمض اللينولئيك Linoleic acid

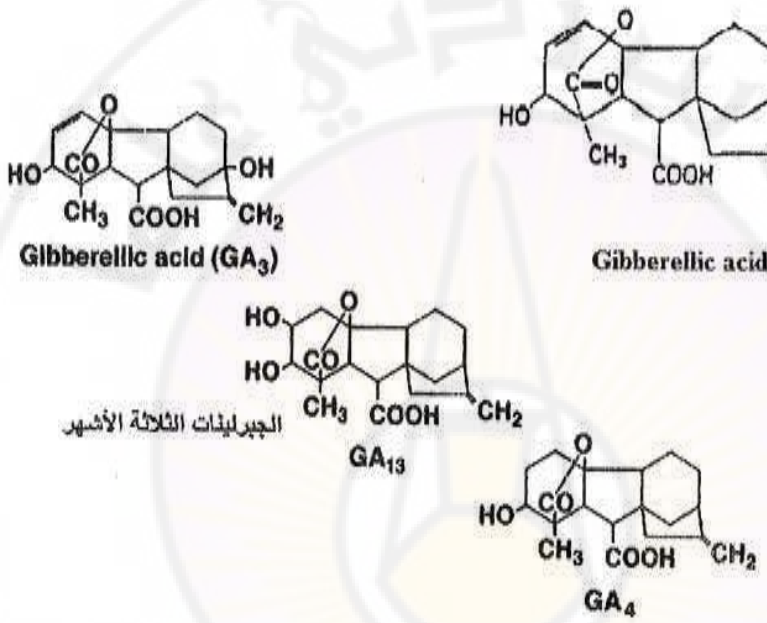
حمض البالميتيك Palmitic acid

حمض الستياريك Stearic acid.

640 الجبرلينات Gibberellins

الجبرلينات من المنتجات الثانوية عند الفطريات، وهي أيضاً هرمونات نباتية، وتتميز بأهمية كبيرة في التقانات الحيوية؛ لأنها عوامل نمو، ويمكن استحصال الجبرلينات من بذور الفاصولياء غير الناضجة، ومن بعض أجزاء النبات الأخرى. تنتج النباتات خمسة أنواع فقط من الجبرلينات Gibberellin، وتنتج الفطريات نحو 40 نوعاً من الجبرلينات، تتميز بعض سلالات الأعفان من النوع *Fusarium moniliforme* بإنتاج الجبرلين A3 (Gibberellic acid) وهو من الفطريات الممرضة بشدة للنبات (الشكل 6-1)، ويدعى طوره الكامل الفطر الزقي

Gibberella fujikuroi الذي ينتج الصادة الحيوية Bikaverin picks إلى جانب الجبرلينات، فتجري تنمية الأعفان على مادة فيها سكريات مخلوطة مع قليل من المواد النتروجينية، وقد يُضاف الغليسرين glycerol لزيادة إنتاج حمض الجبرليك، تبلغ إنتاجية الجبرلين 1 – 2 غ/ل بعد 120 – 150 ساعة حضن في 25 س°.



الشكل 6–1 صيغة الجبرلين Gibberellin.

650 الفيتامينات Vitamins

الفيتامينات مجموعة من المركبات العضوية منخفضة الجزيئة، تبدي بتراكيز منخفضة جداً تأثيراً حيوياً متنوعاً وشديداً، ومصدرها الطبيعي أساساً هو النباتات والأحياء الدقيقة، حيث تتمكّن الأحياء الدقيقة على نحو رائع بتركيب:

الميناكينونات Menachinons

والكوبلامينات Cobalamines.

في الواقع، نجح التركيب الكيميائي في إنتاج الفيتامينات، إلى جانب الطرائق الميكروبيولوجية التي تحقق نجاحاً ملموساً، ففي الطريقة الميكروبيولوجية يجري الحصول على الفيتامين B_{12} والإرغوستيرين Ergosterin.

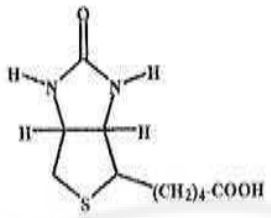
الفيتامينات المنحلة بالماء	الفيتامينات المنحلة بالدسم
حمض النيكوتين	الفيتامين K
النيكوتيناميد والمرافقات الإنزيمية المرتبطة	الفيتامين E
حمض البانتوتينيك Pantothenic acid	الفيتامين D
والمرافق الإنزيمي A	
البيريدوكسين Pyridoxine (الفيتامين B_6)	الفيتامين A
الفيتامين B_{12}	
الفيتامين C حمض الأسكوربيك	

يمكن بالطريقة الكيميائية الحصول على خليط، أما الفاعلية الحيوية فتؤدي إلى إنتاج الشكل D-vitamin.

هناك أكثر من 40 مصنعاً ضخماً للفيتامينات في العالم، منها: USA (18)، Japan (8)، أوروبا الغربية (14). الموقع الرائد في صناعة الفيتامينات – السويد Hoffman La Roche الذي ينتج 50 – 70% من إجمالي الفيتامينات.

651 البيوتين Biotin

البيوتين فيتامين ينحل بالماء (الشكل 6-2)، والأمل واعد في الحصول الميكروبيولوجي عليه، يُستعمل البيوتين المنتَج بطريقة كيميائية في الأعلاف المركبة لتغذية الدجاج وبعض الحيوانات، وله دور مهم في تركيب الحموض النووية والأسس النتروجينية وعديدات السكر والحموض الدسمة، ويؤدي غيابه في الوسط الغذائي إلى تخريب الغشاء السيتوبلاسمي.

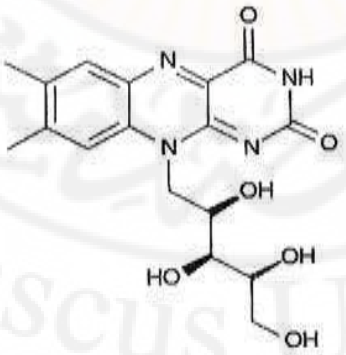


الشكل 6-2 صيغة البيوتين Biotin.

652 الريبوفلافين Riboflavin (الفيتامين B_2)

يوجد الفيتامين B_2 في خلايا الأحياء الدقيقة كمرافقات إنزيمية، مثل: فلافين أدنين أحادي النكليوتيد Flavine Adenine Mnononucleotide FMN، وفلافين أدنين ثنائي النكليوتيد Flavine Adenine Dinucleotide FAD التي ترتبط مع البروتين (الشكل 6-3)، ويوجد حراً في اللبن، ويوجد في الأغذية الأخرى كجزء من الفلافوبروتين في الكبد والقلب والكلى والبيض، منحل بالماء، ويؤدي نقصه إلى ظهور التهابات جلدية في الإنسان، ويُضاف عادة مع الخبز في كثير من بلدان العالم، ويؤدي نقصه إلى تقزم الفئران وضمور العين والتهاب الجلد.

يجري إنتاج الريبوفلافين تجارياً بعملية التخمر والتركيب الكيميائي على حد سواء، وعموماً يستعمل الفيتامين المركب في صناعة العقاقير والأدوية والأغذية، أما الريبوفلافين المنتج بالتخمر فيستعمل في تغذية الحيوان، وعموماً، من الأنواع عالية الإنتاج تجارياً الأعفان: *Ermothecium ashbyii*، *Ashbya gossypii*.



الشكل 6-3 البنية الكيميائية للفيتامين B_2.

653 السيانوكوبلامين (الفيتامين B_{12})

يوجد الفيتامين B_{12} في الطبيعة في خلايا الأحياء الدقيقة، في نسيج الحيوانات وبعض النباتات الراقية، مثل: براعم الخيزران، والبقل كالحمص والجلبان، وأوراق الفاصولياء وقرونها، وفيتامين B_{12} منحل بالماء، لا يتمكّن جسم الحيوانات من تركيبه، ويحصل على احتياجاته منه مع الغذاء والأحياء الدقيقة المعوية، أما الإنسان فيحصل عليه من الغذاء؛ لأن الفيتامين الذي تنتجه الأحياء الدقيقة المعوية غير قابل للتمثل، يمنع حدوث فقر الدم Anemia الحاد في الإنسان.

لا تتمكن الخمائر والفطريات الخيطية من تركيب أسلاف الفيتامين، على عكس الجراثيم القادرة على تكوين الأسلاف على نطاق واسع وباستمرار، ومن أهم منتِجاته *Propionibacterium*، فسلالاته البرية تكوّن 1.0 – 8.5 ملغ/ل من أسلاف (كورينويدات)، وقد أمكن الحصول على الطافرات *P. shermanii* M-82 التي يمكنها إنتاج 58 ملغ/ل من الفيتامين.

وهنالك ممثلات شبيهة أخرى قادرة على إنتاج كبير للفيتامين B_{12} ومن أهمها: (*Butyribacterium rettgerii*) *Eubacterium limosum*.

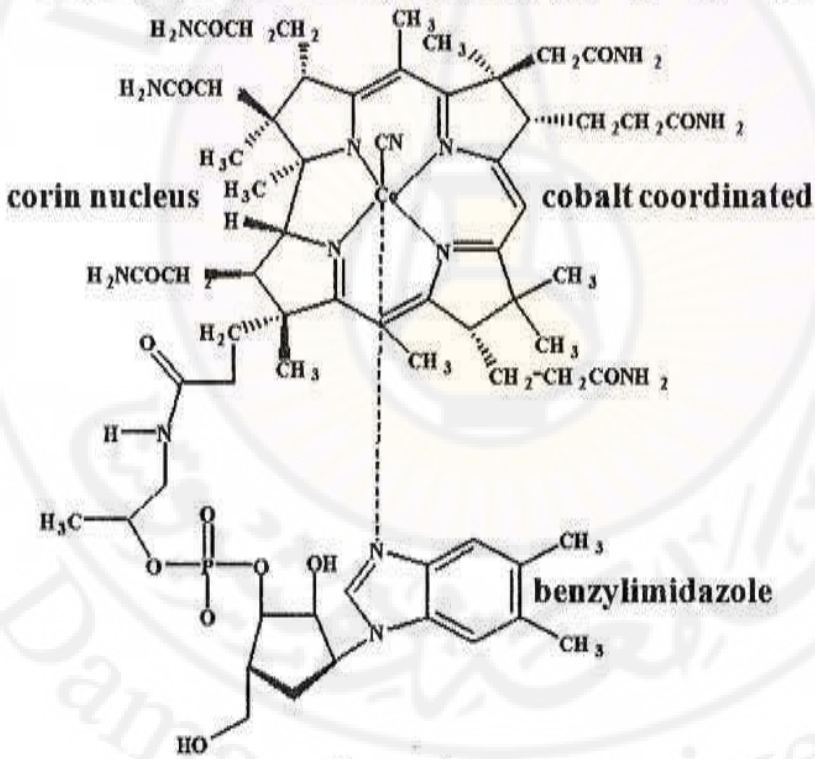
ولكثير من الشعّيات والأحياء الدقيقة المشابهة، المنتِجة للفيتامين B_{12} أهمية عملية، وتنتج *Nocardia rugosa* الفيتامين بكميات ملموسة، وقد أمكن الحصول على سلالة طافرة منها تتمكن من تجميع حتى 18 ملغ/ل من الفيتامين.

تمكن كل من ريك وسميث في عام 1948 من عزل الفيتامين B_{12} في صورة بلورات كيميائية، ثم استعملت أشعة رونتجن لتحديد بنيته الكيميائية ووضعه الفراغي، ويُنتج منه نحو 3500 مغ سيانوكوبلامين، 2000 كغ هدروكسي كوبلامين Hydroxycobalamin، 1000 كغ تميم Coenzyme B_{12}، وكميات قليلة من ميتالوكوبلامين Methalocobalamin في العالم.

تتكون الصيغة المعقدة للفيتامين B_{12} من (الشكل 6-4):

- حلقة الكورين Corrin Ring، وتتكون من حلقة تترابيرول Tetraperol، تختلف عن حلقة بورفيرين الهيموغلوبين بغياب جسر الميتين methen بين الحلقة A و B، وتحتوي ذرة كوبلت Co مرتبطة بذرات النتروجين الأربع.
- ريبونكليوتيد يتكون من الأساس 5,6-dimethylbenzimidazole الذي يرتبط برابطتين إلى حلقة الكورين، واحدة مع الكوبلت والأخرى مع جذر الفُسفات.

يجري التركيب الحيوي للفيتامين كما في حال البورفيرين Porphyrins واليخضور حتى تكوين يوروبورفيريجين Uroporphyriogen 111.



الشكل 6-4 الصيغة الكيميائية للفيتامين B_{12}.

ملاحظة: تُستبدل زمرة السيانيد بجذور مختلفة وفقاً للدور الذي يقوم به الفيتامين B_{12}: NO_2^{2-}، SO_2^{2-} ، OH^-، H_2O، CH_3^+، أدينوزيل.

ومن أمثلة الأحياء الدقيقة المنتجة للفيتامين B_{12}، الآتي:

من المنتِجات النشطة جراثيم:

Micromonospora
M.puroureae
M.echinospora
M.halophitica
M.fusca
M.chalceae

تنتج الجراثيم اللاهوائية إجبارياً الأسلاف (كورينوئيدات)، وتنتج هذا الفيتامين بكميات ملموسة أنواع:

Clostridium
Cl. thermoaceticum
Cl. formicoaceticum

وينتج الفيتامين B_{12} كمنتَج ثانوي في التطبيقات الصناعية:

Streptomyces griseus
Streptomyces olivaceus

وينتج الفيتامين B_{12} النوع:

Pseudomonas denitrificans

وتنتج الفيتامين B_{12} أو أسلافه وشبيهاته أنواع من:

Bacillus, Rhodopseudomonas,...

وتتصف الجراثيم الطافرة بنشاط عالٍ لتركيب الكوبلامين:

Methanosarcina barkeri
M.vacuolata

وبعض سلالات النوع أليف الملوحة:

Methanococcus halophilus

يمكن تنمية منتِجات الفيتامين B_{12} على أوساط محضرة من مواد غذائية: مسحوق فول الصويا، ودقيق السمك، ومستخلص اللحم والذرة، وقد أمكن مؤخراً زرع أحياء دقيقة تنتج كميات كبيرة من أسلاف الفيتامين على مواد غير غذائية.

- عند استعمال غول إيزوبروبيلي كمصدر للكربون والطاقة يمكن لجراثيم *Achromobacter* أن تكدس حتى 1.1 ملغ/ل من طليعة الفيتامين.

- يمكن لجراثيم *Psuedomonas* أن تركب الفيتامين B_{12} في وسط مع الميتانول أو البروبانديول (حتى 160 مكغ/ل)، وتغذية ميتيلية اختيارياً تسمح بتكوين حتى 2.6 ملغ/ل فيتامين في وسط مع الميتانول.

ينتج العالم 9 – 11 ألف كيلوغرام في السنة من الفيتامين B_{12} يُستعمل نحو ثلثيها في الأغراض الطبية والجزء الآخر في تربية الحيوان، ونظراً إلى تعقيد تصنيعه (37 مرحلة) لايزال الأسلوب الميكروبيولوجي الطريقة الصناعية الوحيدة.

للحصول على الفيتامين B_{12} تُنمّى الجراثيم اللاهوائية بطريقة دورية في وسط يحتوي مستخلص الذرة، والغلوكوز، وأملاح الكوبلت وكبريتات الأمونيوم.

نتيجة التخمر تُعدّل الحموض المتكونة بمحلول قلوي يضاف باستمرار، وبعد 72 ساعة تُدخل الأسلاف 5,6-dimethylbenzimidazole؛ لأن الجراثيم من دون إدخال هذه الأسلاف تعمل على تركيب العامل B وفيتامين B_{12} كاذب (أساس نتروجيني يتضمن الأدنين) لا يمتلك أهمية سريرية.

تنتهي عملية التخمر بعد 72 ساعة، ويبقى الفيتامين داخل خلايا الجراثيم، ولذلك بعد انتهاء التخمر تُفصل الكتلة الحيوية، ويُستخلص منها الفيتامين بالماء المحمض حتى pH 4.2 – 5.0 في الدرجة 85 – 90 س° خلال 60 دقيقة مع إضافة $NaNO_2$ 0.25% للتوازن، وعند الحصول على Co-B_{12} لا يُضاف محلول التوازن.

يُبرّد المحلول المائي للفيتامين، تعدل pH حتى 6.8 – 7.0 بمحلول NaOH 50%، ويُضاف إلى المحلول $Al_2(SO_4)_3.18H_2O$ وكلور الحديد $FeCl_3$ عديم الماء لتخثير البروتينات ثم يرشح تحت الضغط.

تجرى تنقية المحلول على مبادل أيونات من الراتنج ثم تنقية إضافية للمحلول المائي للفيتامين باستعمال محاليل عضوية، تبخير وتنقية على قمع مع Al_2O_3، عندئذٍ يمكن فصل Co-B_{12} عن CN^- وأوكسي كوبلأمين.

يضاف الأسيتون إلى المحلول المائي للفيتامين ويحفظ مدة 24 - 48 سا في الدرجة 3 - 4 س°، تُرشح بلورات الفيتامين الراسبة وتغسل بالإيتر، وتجفف في مخلية تجفيف فوق P_2O_5.

لمنع تفكك $Co\text{-}B_{12}$ تجرى العمليات جميعها في أماكن مظلمة (عاتمة) جداً أو في الضوء الأحمر، وبذلك يمكن الحصول على خليط من CN^- وأوكسي كوبلامين ومركب مرافق إنزيمي يتمتع بتأثير علاجي عالٍ.

يعالج المستخلص الصناعي بمحلول الريزورسين المائي (أو الفينول) فيتكوّن معقد الفيتامين والريزورسين، فنحصل على المستحضر البلوري (الشكل 6-5).



الشكل 6-5 الفيتامين B_{12} التجاري.

654 الكاروتينويدات Carotenoids

الكاروتينويدات مجموعة من المركبات الكيميائية الطبيعية تقوم بتركيبها النباتات الراقية، والطحالب، والجراثيم ضوئية التغذية، ومجموعات من الجراثيم كيميائية التغذية، ويمكن لبعض الفطريات الخيطية والخمائر تركيبها، وهي صباغ غير سامة بلون أصفر أو برتقالي أو أحمر، كثيرة الأنواع، وواسعة الانتشار، يُعرف منها حتى الآن أكثر من 600 مركب.

توجد الكاروتينويدات أيضاً في أجسام بعض كثيرات الأرجل والأسماك والطيور والثدييات، غير أن هذه الأحياء غير قادرة على تركيبها ذاتياً، وتحصل عليها مع الأغذية وتفيد كمصدر لتأمين احتياجات الجسم من الفيتامين A.

تدخل الكاروتينويدات في كثير من الصناعات الغذائية والصيدلانية والطبية والتجميلية والكيميائية وغيرها، فإلى جانب صفتها الملونة تتصف هذه المواد بدور في الاستقلاب الخلوي، وهي على نمطين:

الكاروتينات Carotenes: مركبات هدروكربونية تمتلك 40 ذرة كربون.

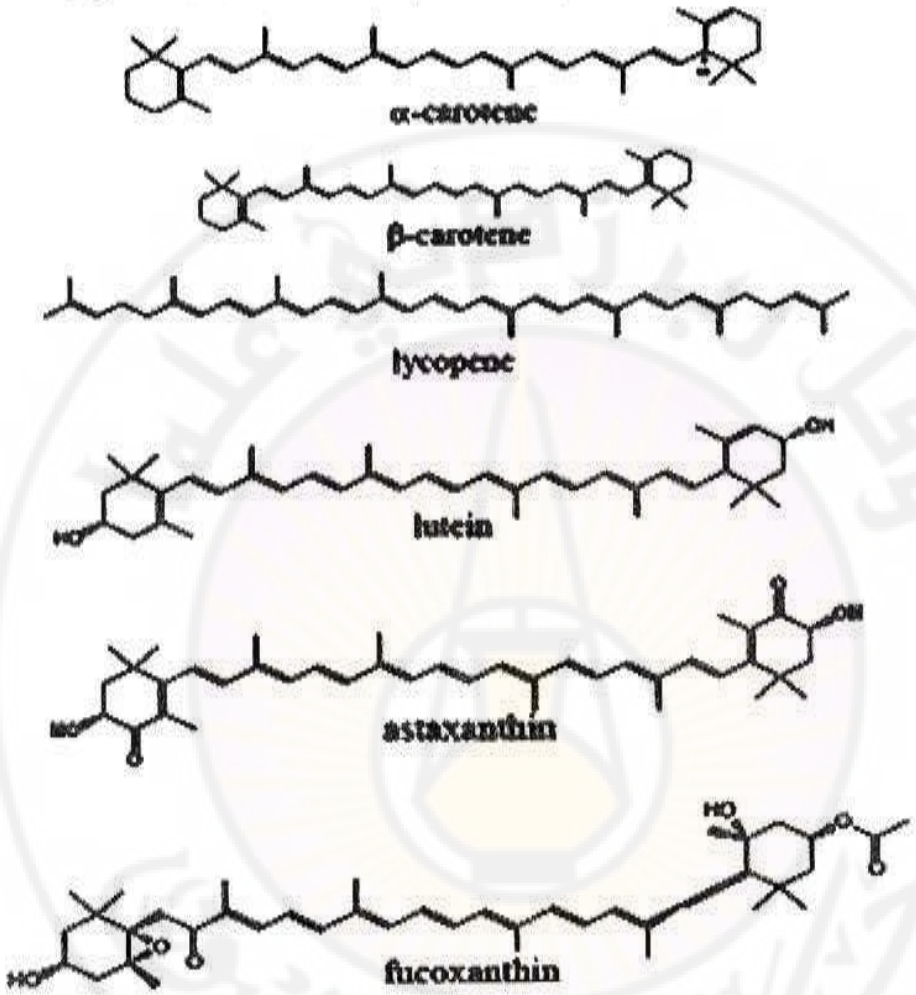
الزانتوفيلات Xanthophylls: مشتقات الكاروتينات تحتوي وظائف أكسجينية (أغلبها زمر هدروكسي أو كيتو أو إيبوكسي أو ميتوكسي أو كربوكسيل)، ومنها لاحلقي مثل الليكوبين وأغلبها يحتوي في إحدى نهايتيه حلقة سداسية أو خماسية، وتأتي وظيفتها اللونية من خلال وجود الرابطة المضاعفة وتوزعها الفراغي حيث تعطي خاصية امتصاص اللون، وأهمها في الاستعمال الغذائي بيتا الكاروتين والمركبات الأخرى المحتوية الحلقة بيتا- وتسمى طليعة الفيتامين A، وهذه تعطي الفيتامين A خلال سلسلة من التحولات الحيوية.

الكاروتينويدات صباغ ملونة تنتشر في النباتات والجراثيم والفطريات والطحالب وفي الحيوانات ولاسيما الطيور والأسماك واللافقاريات البحرية (Rouseff and Nagy 1994, Dan *et al.*, 1998).

توجد الكاروتينويدات بالصيغة الحرة في النباتات والأحياء الدقيقة، ويمكنها تكوين الغليكوزيدات ومعقدات الكاروتينات والبروتينات، وتصادف كثيراً بكميات ملموسة في صورة الإيترات ذات السلسلة الطويلة للحموض الدسمة.

Sarcinaxanthin	تنتجه *Sarcina lutea*
Aleuriaxanthin	تنتجه *Aleuria aurantia*
α-hydroxyfleixanthin	
Actinoerythrin	
Glycosides	

تمتلك البنية سلسلة مركزية طويلة ذات روابط مزدوجة، غالباً 10 – 11 وربما 15، ومنها الأنماط α، β.....(الشكل 6-5)، ويرتبط بذلك وجود الصبغ وشدته.



الشكل 6-5 أنماط الكاروتينيدات.

يتحول بيتا الكاروتين، وهو طليعة الفيتامين A، إلى الفيتامين A في الأمعاء، ويؤدي نقصه إلى العشى الليلي، وتغير في قوام الجلد وملمسه، والأغشية المخاطية، مهم في تركيب عديدات السكر المخاطية Mucopolysaccharides، ويستعمل أيضاً كمضافات ملونة لبعض الأغذية.

توجد أنماط عديدة اكتشفت منذ عقدين – 3 فقط عند الأحياء الدقيقة ولاسيما في الأنواع التي لا تقوم بالتركيب الضوئي.

وهنالك مجموعة من الكاروتينات في الطبيعة لها أقل من 40 ذرة C وتسمى Apocarotenoides، مثل:

بيتا سيتراورين حموض السبورين الفيتامين A

تقسم الكاروتينات Carotenes إلى:

عديمة الحلقة وحيدة الحلقة ثنائية الحلقة

وقد تقسم استناداً إلى وظائفها، وجرى تعيين أكثر من 600 من أنواعها.

تعد مراحل تركيب الكاروتينات الآتية (الشكل 6-6):

يكون المركب البادئ هو الخلات Acetate، ومن الأولية وحدة إيزوبرنيّة:

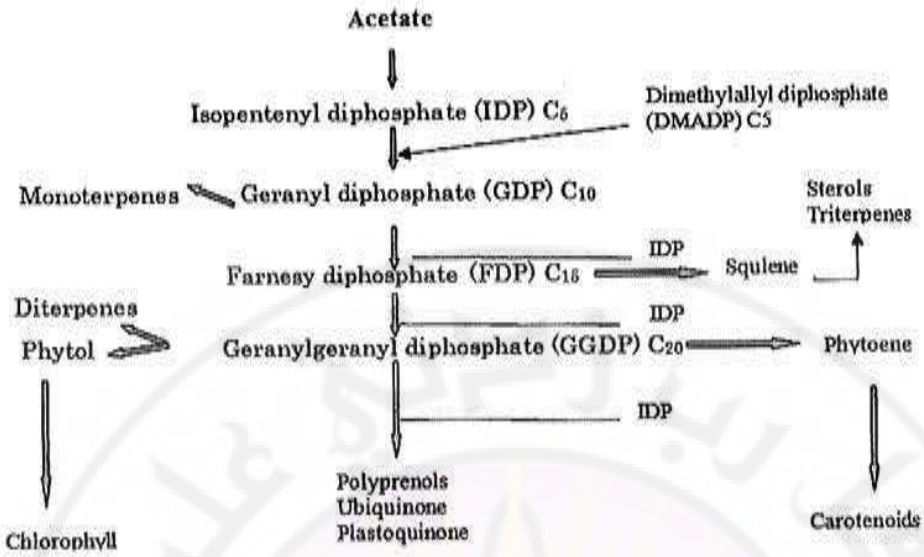
إيزو بنتينيل دي فسفات (السلف C_5) + دي ميتيل أليل دي فسفات

⟸ جيرانيل دي فسفات GGDP (مركب C_{10})

وهذا الأخير يتحول باندماج جزيئين منه إلى جيرانيل جيرانيل دي فسفات GGDP (مركب C_{20}).

والمركب GGDP بدوره يعطي:

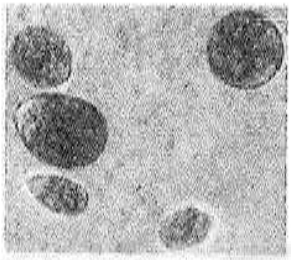
- مركب الفيتوين Phytoene (مركب C_{40}) وهو السلف الأول للكاروتينويدات Carotenoids، وله مماكبات أحدها سائد، غير أن النمط النادر يوجد سائداً في بعض الأحياء الدقيقة، والمهم أن استعمال أي منهما كمركب انتقالي يتعلق بظروف الاستزراع وخصائص الجهاز الإنزيمي عند الأحياء المقصودة.
- أو مركب GGDP البوليبرينولات أو الأوبيكينونات أو البلاستوكينونات.
- أو الفيتول Phytol الذي ينتج اليخضور.



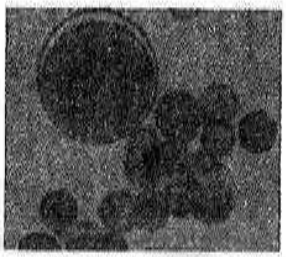
الشكل 6-6 التركيب الحيوي للكاروتينويدات (Johnson and Schroeder 1995).

تُنتَج الكاروتينات بعملية التركيب الكيميائي، ويمكن استخلاصها من مصادرها الطبيعية من النباتات والأحياء الدقيقة: بيتا كاروتين β-carotene، والفيتامين A، و β-apo-8-carotenal وغيرها. في الواقع، يمكن الحصول عليها من مصادرها التقليدية: الجزر والقرع وغيرها، غير أن الصناعات أخذت تستعمل الفطريات الخيطية والخمائر على نطاق أوسع، وللجراثيم والطحالب أيضاً أهمية كبيرة، ومن المؤكّد أن بعض الجراثيم ضوئية التغذية تستحق كثيراً من العناية في هذا المجال فيمكن التحكم في المحصول بالضوء.

والجراثيم الأرجوانية غنية بالكاروتينات التي تفيد كمضافات إلى أعلاف الدجاج فتزيد اصطباغ صفار البيض. ومن الطحالب المنتجة للكاروتينويدات *Spongiococcus excentricum*، *Chlorella*، وكذلك *Dunaliella salina*، أليفة الملوحة، وبسبب إنتاج كميات كبيرة من الكاروتينويدات خارج الصانعات الخضراء في الجدار الخلوي أو في الفقاعات الزيتية تصبح *Haematococcus* الخضراء برتقالية اللون (الشكل 6-7).



Dunaliella salina



Haematococcus pluvialis



الشكل 6-7 ازدهار الطحالب بلون أحمر في الملاحات بمنطقة دلتا النيل.

ويمكن استعمال بعض أنواع الشعيّات لإنتاج الكاروتينويدات، مثل:

Actinomyces chrestomycetes var. aurantioideus
Act. chrysomallus var. carotenoides

والمفطورات:

Mycobacterium phli, M. carotenum

وكذلك بعض سلالات جراثيم *Flavobacterium* المنتِجة لصباغ الزيازنتين Zeaxanthin، وجراثيم *Brevibacterium*، ولهذا الأمر أهمية خاصة؛ لأن مركب الزيازنتين لم يستحصل بالطريقة الكيميائية.

تتمكّن الأحياء الدقيقة من تركيب الكاروتينويدات بكميات مختلفة وفقاً لأوساط الاستزراع التي تحتوي مواد أولية موجودة في البيئة أو مخلفات صناعية كالغذائية والزراعية، مثل: الأعفان:

Phycomyces blakesleenus, Blakesla trispora

والخمائر Yeasts:

Rhodotorula gracillis, R.rubra, Rhodosporidium diaboratum

وتؤكد التجارب المحلية على أهمية استعمال الأحياء الدقيقة في إنتاج الكاروتينويدات (ياسين 2004)، مثل الفطر *Epicoccum* والخمائر *Rhodotorula* و *Phaffia*.

- *Epicoccum*: أنتج صباغ بيتا كاروتين بمقدار 10-86 ملغ/100 غ مادة جافة، على وسط من مطحون قشور الحمضيات ومحلول غذائي (المولاس، واليوريا، ومحلول تشابك، وأملاح). في مزرعة ساكنة مدة 10 أيام / 25 درجة سلسيوس، عُزلت الأعفان من تربة مستنقعية.
- *Rhodotorula gracilis*: أنتج صباغ بيتا كاروتين بمقدار 14-115 ملغ/100 غ مادة جافة، على أوساط مختلفة مصادر الكربون. في الهزاز 5 أيام / 25 درجة سلسيوس، عُزلت الخمائر من محلول مخلل الزيتون واللبنة.
- *Phaffia rhodozyma*: أنتج صباغ أستازنتين Astaxanthin بمقدار 18-60 ملغ/100 غ مادة جافة، على أوساط مختلفة مصادر الكربون. في الهزاز 5 أيام / 18 درجة سلسيوس، عُزلت الخمائر من عصير ليمون ومن اللبنة.

ويبين الجدول 6-3 الأحياء الدقيقة المستعملة لإنتاج الفيتامينات بالتخمر.

الجدول 6-3 الأحياء الدقيقة المستعملة لإنتاج الفيتامينات بالتخمر.

Reference المرجع	Source المصدر	الفيتامينات
Kalingan 1998	*Eremothecium ashbyii*	الفيتامين
Park *et al.* 2007	*Ashbya gossypii*	B2
Alberto *et al.* 2008	NRRL 1363	
Sugimoto *et al.* 2009	*Pichia guilliermondii*	
Fayura *et al.* 2007	*Bacillus subtilis*	
Mironov *et al.* 2008	*Eremothecium ashbyii*	
Pujari & Chandra 2000	*Lactobacillus lactis*	
Jeroen *et al.* 2002	*Bacillus subtilis* RH44	
Qui-Li *et al.* 2007	*Pichia pastoris*	
Hans *et al.* 2008	*Bacillus megaterium*	
Chung & Fields 2006	ATCC 13639	
Chung & Fields 2006	*Enterobacter aerogenes*	
Buzzini & Rossi 1998	*Candida tropicalis*	
Koizumi *et al.* 2000	*Corynebacterium ammoniagens*	
Stahmann *et al.* 2000	*Candida famata*	
Sabry *et al.* 1988	*Candida guilliermondii*	
Massaki *et al.* 1999	*Rhizobium leguminosarum*	الفيتامين B_6
Quesada-Chanto *et al.* 1998	*Propionibacterium*	
Saki *et al.* 2004	*E. coli*	
Li *et al.* 2008	*Pseudomonas denitrificans*	الفيتامين
Quesada-Chanto *et al.* 1994	*Propionibacterium acidipropionici*	B_{12}
Alberto *et al.* 2000	*Acetobacterium sp.*	
Sylvia & Bernward 1994	*Citrobacter freundii*	
Turlo *et al.* 2008	*Lentinula edodes*	
Halbrook *et al.* 1950	*Bacillus megaterium*	
Ye *et al.* 1996	*Propionibacterium freudenreichii*	
Manjula & Sureshkumar 2000	*Xanthomonas campestris*	
Johaness *et al.* 1982	*Ochromonas danica*	الفيتامين
Robert *et al.* 2000	*Saccharomyces cerevisiae*	C
Onofri *et al.* 1997	*Clavispora lusitaniae*	
Onofri *et al.* 1997	*Cryptococcus terreus*	
Onofri *et al.* 1997	*Pichia fermentans*	
Takeyama *et al.* 1997	*Euglena gracilis*	

ويلخص شيميتزو [Shimizu, 000] عملية إنتاج الفيتامين B_{12}: تركيز الكتلة الخلوية...، استخلاص بالميتانول أو الحرارة، التنقية بالامتزاز والترشيح (الفيتامين المنحل جيد للعلف)، الكروماتوغرافيا- الفيتامين النقي ويمكن بلورته من المذيبات العضوية - وهو جيد للأغذية.

660 الحموض الأمينية Amino acids

يمتلك جزيء الحمض الأميني زمرتين وظيفيتين، إحداهما زمرة أمين NH_2، والأخرى زمرة الكربوكسيل COOH–؛ وبالتالي يتصف بخواص غير اعتيادية، وثمة أمر آخر غريب عن الحموض الأمينية في الأجسام الحية هو أن العدد الذي يوجد منها في الطبيعة لا يتجاوز (على وجه التقريب) العشرين، مثل: الألانين، والأرجنين، وحمض الغلوتاميك، والغلوتامين، والغليسين، واللوسين، والليزين، والميتيونين، وفنيل آلانين، والبرولين، والتربتوفان (Matthews 2000 ص541).

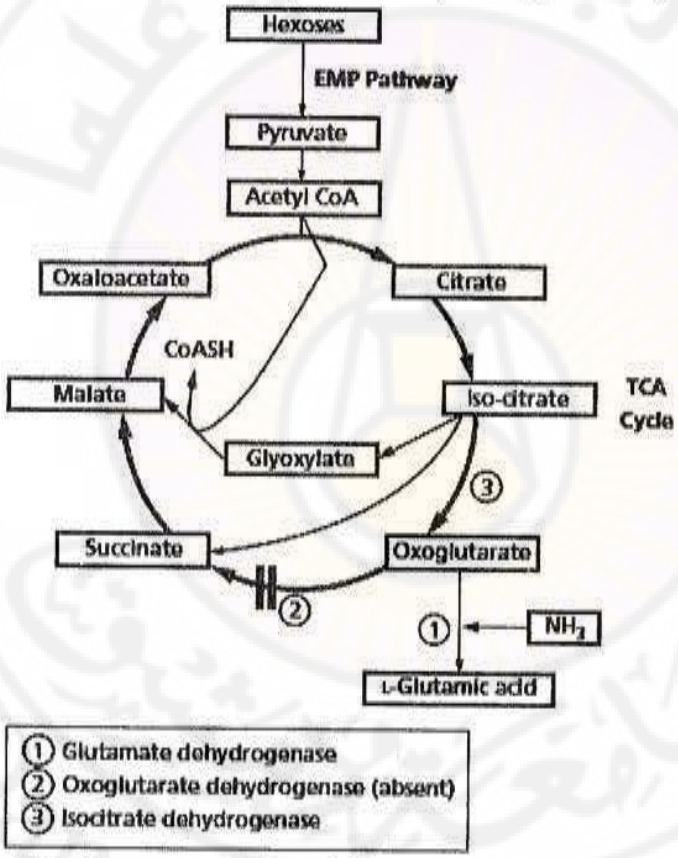
يزداد استعمال الأحياء الدقيقة في إنتاج الحموض الأمينية عن طريق التخمر، وتعد سلالات الخميرة *Rhodotorula* أكثرها فاعلية في هذا الغرض، ونظراً إلى افتقار حبوب النجيليات للحمض الأميني الليسين L.Lysine فإنه من المرغوب فيه البحث عن بديل رخيص الثمن لإنتاج هذا الحمض الأميني وغيره من الحموض الأمينية الأخرى، ويمكن تنمية الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* لإنتاج الليسين باستعمال حمض 2-formyl-2-ketovaleric، ويمكن تنمية الخميرة *Torulopsis utilis* (الشكل 6–8) لإنتاج الحمض الأميني الليسين أيضاً باستعمال مخلفات الورق.



الشكل 6–8 الخميرة *Torulopsis utilis*.

ويمكن إنتاج الحمض الأميني التربتوفان Tryptophan بتنمية سلالة قريبة جداً للنوع *Candida tenuis* و *C. parapsilosis*، وبعض سلالات *Hansenula*، وكذلك بتنمية النوعين: *Torulopsis utilis* و *Fusarium roseum*.

وأكثر الجراثيم المنتجة للحموض الأمينية انتشاراً هي غير المتبوغة Gr^+، مثل: *Corynebacterium, Micrococcus, Arthrobacter, Brevibacterium*، وغير ذلك، ولكن تحديد الوضع التصنيفي الدقيق لغالبيتها صعب، ولا تتوافر مراجع كافية أو معلومات لتحقيق ذلك (الشكل 6-9).



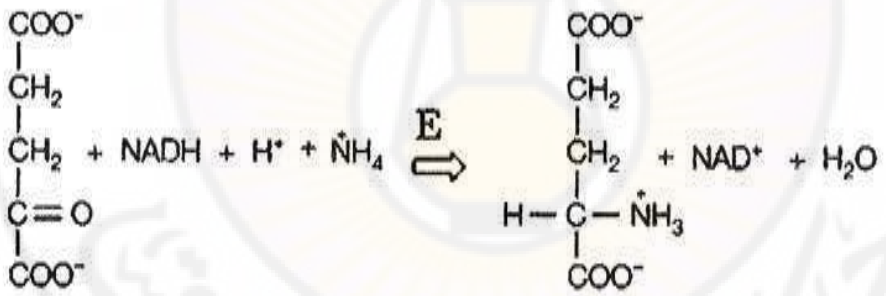
(1) غلوتامات ديهدروجيناز، (2) أكسوغلوتارات ديهدروجيناز (غائب)، (3) إيزوسترات ديهدروجيناز

الشكل 6-9 التركيب الحيوي للحمض الغلوتاميك L-Glutamic في سلالات طافرة.

يُنتج *Corynebacterium glutamicum* (*Micrococcus glutamicus*) حمض الغلوتاميك، ويمكن تحقيق ذلك بفعل جراثيم النوع *Bacillus subtilis* والنوع *Pseudomonas fluorescens*.

يتميز حمض الغلوتاميك L-Glutamic بأهميته الكبيرة في التفاعلات الحيوية في الخلية، ولذلك فإنه لا يتراكم، إلا أن البحث في اليابان أثبت وجود بعض السلالات من الوتديات Coryneforms تتصف بقدرتها على إنتاج كميات كبيرة تزيد على 30 غ/ل من الحمض في الوسط، واستعملت لذلك في الإنتاج الصناعي.

تحدث لحمض ألفا-كيتوغلوتاري α-ketoglutaric acid الناتج في إحدى مراحل TCA عملية إرجاع أميني Reductive amination بوساطة ديهدروجيناز حمض الغلوتاميك glutamic acid dehydrogenase لإتمام عملية التركيب وفق المعادلة:



α- Ketoglutarate **Glutamic acid**

E: L-glutamic acid dehydrogenase

وتؤدي إضافة البيوتين إلى وسط إنتاج حمض الغلوتاميك، المفيد في نمو الجراثيم، إلى توجيه التخمر نحو إنتاج الحمض ولاسيما عند استعمال السكريات كمصدر للكربون (الآلية غير معروفة).

تحفظ المزارع الجرثومية المنتجة لحمض الغلوتاميك على وسط صلب مائل مكون من الترپتون والغلوكوز ومستخلص الخميرة.

تبدأ عملية الإنتاج بتنمية اللقاح في مزرعة هزازية مغمورة مدة 15 – 30 ساعة في الدرجة 28 – 30 س° على وسط مماثل لوسط الحفظ، ثم يجرى نقل تدريجي إلى أوعية أكبر حجماً، ويلقح وسط الإنتاج بنسبة 2 – 10% حجم/حجم.

تضبط كمية البيوتين وفقاً لتركيز السكريات بين 1.5 – 2 ملغ/ل إذا كان تركيز السكر 5%، وبين 2 – 3 ملغ/ل عند 10% سكر، وبين 4 – 8 ملغ/ل عند 15% سكر، وبين 7 – 10 ملغ/ل عند 20% سكر. كما تضبط pH على القيمة 6 – 8، وتضبط درجة الحرارة بين 27 – 30 س° مع مراعاة التهوية الجيدة. تظهر الأحياء الدقيقة المنتجة بسرعة خلال العشرين ساعة الأولى من التخمر، قبل معدن النمو، ويبدأ حمض الغلوتاميك، وينتهي التخمر خلال 30 – 40 ساعة عندما يصل تركيز الحمض إلى حده الأقصى.

(6) محسنات النكهة والطعم والرائحة

Flavor, Taste and Odor Enhancers

تنتج الأحياء الدقيقة عدداً كبيراً من المواد الكيميائية ذات النكهة أو الروائح المستحبة، ويمكن استعمال العديد منها كمحسنات في الأغذية والعطور، وتُنتج حالياً بتنمية الأحياء الدقيقة كالجراثيم والفطريات. تتميز محسّنات النكهة بجودتها، ورخص ثمنها، وسهولة إنتاجها مقارنة بالمواد النباتية.

6/1 نكليوتيدات النكهة Flavor Nucleotide

يستخلص الرنا الريبوزي RNA من خلايا الخميرة، ثم يحضّر معلّق منه في محلول مائي ويحضن مع إنزيمات 5′-phospho-diestrase التي تُنتجها أعفان *Penicillium citrinum* في درجة الحرارة 70 س°، فيتفكك r RNA إلى مركبات النكهة، وأهمها:

5′-guanylate, 5′-inosinate

وتُنتج جراثيم *Corynebacterium glutamicum* حمض الإينوسيني/ إينوسين –5– أحادي الفسفات IMP (inosine monophosphate)، عند تنميته في وسط يحتوي تراكيز نمو مثالي من البيوتين، وهي بحاجة إلى الأدنين.

وتُنتج جراثيم *Brevibacterium ammoniagenes* حمض الغوانيلي/ غوانوسين –5– أحادي الفسفات GMP (guanosine monophosphate)، بإضافة الغوانين، وهو أهم نكهة نكليوتيدية.

672 التربنات Terpenes

تتواجد غالباً مركبات نباتية تعد سبب رائحة كثير من الزيوت العطرية الهيدروكربونية Hydrocarbons، وتتميز العديد من الأحياء الدقيقة بقدرتها على إنتاج التربنات، فمثلاً تتميز أنواع من الفطر *Ceratocystis* بإنتاج عدد من التربنات لها رائحة الفاكهة، مثل:

الجرانيول Geraniol، والسيترونيلول Citronellol، واللينالول Linalool.

673 المنتول L-menthol

المنتول من المركبات العطرية الأساسية، واسع الاستعمال في الصناعات: التجميل، والمواد المعطرة للحمامات، ومواد التنظيف وغيرها، يزيد انتاجه عالمي 300 طن/سنة بالعالم، وينتجه اليابانيون من خميرة *Rhodotorula minuta var.texensis* المستوقفة على عمود من البولي يورتان polyurethane.

674 اللاكتونات Lactones

تستعمل اللاكتونات أساساً للنكهة أو الرائحة، وهي منتجات فطرية تتميز بانخفاض تكاليف إنتاجها مع عدها منتجاً طبيعياً.

وقد نجحت شركة Unilever الهولندية في إنتاج هذه المركبات مؤخراً من خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* المستوقفة.

680 التخمر البروبيوني Propionic Fermentation

يتضمن هذا التخمر إنتاج حمض البروبيونيك Propionic acid، ويسمى أيضاً حمض المتيل أستيك أو حمض الإتيل فورميك، وحمض البروبانويك، وله الصيغة الكيميائية CH_3CH_2COOH، وهذا الحمض سائل عديم اللون له رائحة واخزة، قابل للامتزاج بالماء، وغالباً جميع المذيبات العضوية العادية، ويمكن إنتاجه في ممارسة التصنيع الجيد، وله تطبيقات مختلفة، مثل: مادة حافظة (في بروبيونات الكلسيوم والصوديوم)، وسيلة مضادة للأعفان (بروبيونات الأمونيوم)، مادة حافظة للأغذية (بروبيونات الكلسيوم والصوديوم)، وسيلة للنكهة، مركب انتقالي يفيد كمبيد للأعشاب، مركب انتقالي صيدلاني، مركب انتقالي يفيد في الصباغ، مساعد للأنسجة والمطاط، البلاستيك، مستحضرات التجميل (www.dow.com).

690 بروتين الخلية المفردة Single Cell Protein (SCP)

يمكن استعمال بروتين الخلية المفردة Single cell protein كأحد المنتجات الأولية لاستقلاب الأحياء الدقيقة في تغذية الحيوانات وربما لاحقاً في تغذية الإنسان؛ لأنها بروتينات ذات محتوى عال من الحموض الأمينية، إضافة إلى الفيتامينات والمعادن والشحوم والسكريات، ويعد محتواها العالي من الحمض الأميني الليسين مهماً جداً لاستعمالها، وتفيد الجراثيم والخمائر والأعفان والطحالب في تحضير بروتين الخلية الواحدة، وإن كان البروتين ليس المكون الغذائي الوحيد الذي تنتجه هذه الأحياء، والتسمية غير موفقة بالفعل.

ولم يخف على الإنسان منذ القدم الاستفادة من الأحياء الدقيقة في أغراض التغذية، وإجراء التعديلات والتطورات في طرائق هذا الاستغلال ووسائله كيفاً وكماً تماشياً مع تغير الاحتياجات والمعطيات المادية والفنية والتقنية، وفي هذا المجال فإن أهمية الأحياء الدقيقة تكمن في إمكان استعمالها كطرف رئيس وفعال في العديد من الصناعات الغذائية والتحويلية التقليدية المهمة، حيث يمكن بوساطتها تحويل العديد من المنتجات الزراعية الأولية الخام نباتية وحيوانية وإعدادها،

ومخلفاتها، وكذلك مخلفات بعض الصناعات الغذائية والكيميائية وتحويلها من مجرد منتجات منخفضة القيمة التسويقية أو مخلفات ضائعة لمنتجات ذات قيمة تسويقية، وفي معظم الحالات غذائية مرتفعة، عدا عن حماية البيئة المحيطة بالإنسان من التلوث العضوي والصناعي، وتسمح وسائل التقانات الحديثة باستعمال أنواع معينة من الخمائر والجراثيم والطحالب، ولاسيما تلك التي تتصف خلاياها بارتفاع نسبة البروتين وجودته الغذائية، وكذلك استغلال مصادر أولية جديدة لعنصر الكربون و/أو الطاقة منخفضة التكاليف لتنمية وإكثار هذه الأحياء الدقيقة، مثل مشتقات النفط كالبرفينات، وبعض الأغوال كالميتانول بالنسبة لأنواع الجراثيم والخمائر، والطاقة الشمسية بالنسبة للطحالب وحيدة الخلية، وكذلك يمكن قيام صناعات تحويلية وغذائية مهمة باستغلال الأحياء الدقيقة والتقانات بهدف تحقيق المكاسب الاقتصادية والاجتماعية.

ولذلك يجب الاهتمام باستعمال الأحياء الدقيقة، والتقنية البسيطة والمتقدمة في أغراض تغذية الإنسان في البلدان العربية، وللعديد من الموارد الأولية، ولاسيما المشتقات النفطية كالبرفينات، والغاز الطبيعي، ومنتجات الصناعات البتروكيماوية كالميتانول، والإيتانول، ومنتجات الإنتاج الزراعي النباتي والحيواني ومخلفاته، وكذلك مخلفات الصناعات الزراعية والغذائية، والصناعات الأخرى، أي إنشاء العديد من الصناعات الغذائية التقليدية وتدعيمها، وصناعات التخمر الهادفة والموجهة ذات الجدوى والفائدة الاقتصادية.

يمكن استغلال الأحياء الدقيقة في إنتاج بروتين الخلية المفردة في أغراض تغذية الإنسان (والحيوانات) لما تحتويه من نسبة عالية من البروتينات، بهدف مجابهة النقص المتزايد في البروتينات، وتقسم الأحياء الدقيقة التي يمكن استعمالها إلى ثلاث مجموعات رئيسة:

الجراثيم، مثل: بعض أنواع *Pseudomonas* و *Hydrogenomonas* و *Bacillus* و *Micrococcus* و *Methanolomonas* وغيرها. ومن الجراثيم الزرقاء: *Spirulina* وغيرها.

الخمائر، مثل: بعض أنواع *Hensenula* و *Saccharomyces* و *Candida* و *Rhodotorula*.

الطحالب: مثل: *Chlorella* و *Scenedesmus* و *Coelastrum*.

تتميز هذه الأحياء الدقيقة من مصادر البروتين الأخرى النباتية والحيوانية بأنها سريعة نموها حيث تنمو الفترة اللازمة لنمو الجيل الواحد من الجراثيم والخمائر بالطحالب بعدة لحظات إلى عدة ساعات، بينما تتباين مصادر البروتين الأخرى تبعاً لحاصة وزنها في النباتات الراقية والحبوب والبقوليات من بضعة أشهر إلى 4 أسابيع في الدجاج إلى شهر، وفي الأبقار إلى أكثر من سنتين، وإمكانات إجراء تغييرات وراثية أو طفرات بسهولة من أجل الحصول على سلالات جديدة تحمل صفات مرغوب فيها، وارتفاع نسبة محتوى خلاياها من البروتين نحو (50 – 80)% من الوزن الجاف، أما من حيث الجودة الغذائية فتضاهي جودة بعض البروتينات الحيوانية مثل كازيين اللبن.

ويُضاف إلى ذلك سهولة التحكم في ظروف وعمليات تنمية وإنتاج معظمها بعيداً عن التقلبات الجوية، والبيئة في المخمرات؛ مما يؤدي إلى تماثل في الإنتاج وجودته (الجدول 4-6). أما بالنسبة للمواد الأولية الخام التي تستعمل في البيئات المغذية خاصة كمصادر للطاقة و/أو عنصر الكربون فإنها تمتاز بتعددها وتنوعها، إلا أن أهمها من حيث الكلفة، والوفرة في المدى القريب والبعيد هي منتجات صناعة تكرير النفط كالبرفينات النقية، والغاز المفرغ ($H_2 + O_2$)، والطاقة الشمسية خاصة للطحالب مفردة الخلية؛ إضافة إلى العديد من المواد الأولية مثل مخلفات أو فائض الإنتاج الزراعي أو الصناعي، مثل: مخلفات البلح، والتمور، ومخلفات عصير الفواكه وتعبئتها، وشرش اللبن، ومخلفات صناعة السكر،

والمحاليل السكرية لمفككات النشاء والسليلوز، وكذلك مخلفات المدن من مياه الصرف التي تصلح هي الأخرى في أغراض صناعة وإنتاج بروتينات الخلية المفردة، إلا أنه يستحسن استغلالها في إنتاج مواد غذائية وأخرى ثانوية.

الجدول 6-4 التركيب الكيميائي لمكونات خلايا الخمائر والجراثيم والطحالب مقارنة بمكونات مركزات مسحوق السمك، ومسحوق فوق الصويا كنسبة مئوية % من الوزن الجاف (Skinner 1975).

مصدر البروتين	مصدر الطاقة و/أو عنصر الكربون	بروتين		شحوم	سكريات	رماد
		خام*	حقيقي			
الخمائر	n- برفينات	69	53	9	20-5	6
الجراثيم	ميثانول	80	60	8	10	8
الطحالب الدقيقة	CO_2	50-45	50-45	5	18-10	10-6**
مسحوق السمك		65-60	50	10-5	10-5	20
مسحوق فول الصويا		50-45	40	1.5	12-3	10

*البروتين الخام هو محصلة ضرب كمية النتروجين الكلي × المعامل 6.25، وهو يشمل البروتين الحقيقي، والحموض النووية.

** Jaleel and Soeder 1973

الطحالب تعد الطحالب والجراثيم ذات التركيب الضوئي مهمة في إنتاج بروتين الخلية المفردة، مثل *Chlorella, Scenedesmus, Spirulina*، وفق الآتي:

1. يتطلب استزراع الطحالب البرك ذات المساحات الكبيرة، إذ تنمو الطحالب في الطبقة السطحية من البركة 20 - 30 سم حيث تكون شدة الإضاءة عالية، وغالباً ما تقلب المياه باستمرار أو على نحو متقطع بأي وسيلة، لمنع حدوث ترسيب للطحالب في القاع، ويضمن هذا التقليب تعرض الخلايا والمادة الغذائية للضوء بانتظام.

2. تتكون البرك من قنوات ملتوية مزودة بأجهزة لمزج وتهوية الطحالب، وتنمو المزرعة المختلطة من الجراثيم والطحالب في البرك على أنواع كثيرة من *Chlorella, Scenedesmus, Euglena, Micractinium* ويعد هذا نظاماً تكافلياً تعايشياً.

3. لا يكون تركيز غاز ثنائي أكسيد الكربون الجوي 0.03% كافياً لنمو الطحالب، ويمكن إضافة مقادير منه بوساطة الكربونات أو البيكربونات الموجودة في البرك القلوية عن طريق الغازات الناتجة عند الاحتراق أو عند تحلل المادة العضوية في مخلفات الصرف الصحي والصناعي، فتركيزه في غازات الاحتراق 0.5 – 5%.

4. تتضمن مصادر النتروجين لإنتاج الطحالب أملاح الأمونيا أو النترات أو النتروجين العضوي الموجود في برك أكسدة الصرف الصحي، وعادة ما توجد المواد الغذائية الفسفورية والمعدنية الأخرى في المياه الطبيعية ومياه الصرف الصحي بتراكيز كافية لنمو الطحالب، وتعد مشكلة الازدهار الصيفية في الخزانات دليلاً واضحاً على كفاية تراكيز المغذيات.

5. تكون شدة الضوء ودرجة الحرارة من العوامل المهمة لنمو الطحالب، فاستعمال الضوء الصنعي يكون مكلفاً جداً لإنتاج البروتين كمادة علفية، ومن أجل الجدوى الاقتصادية في تأمين كميات كبيرة من الأحياء الدقيقة يجب أن تكون السماء صافية نسبيا في موقع الاستزراع، وأن تكون تغييرات شدة الضوء طفيفة في العام، إضافة إلى أن درجة الحرارة يجب أن تكون 20 س° على الأقل في معظم أيام السنة، لذلك فإن المناطق النموذجية هي البرك الصناعية في المناطق المدرية وشبه المدارية أو الجافة، وتشمل المواد المستعملة في بناء البرك الصناعية الخرسانة واللدائن أو رقائق الألياف الزجاجية.

6. تجري تنمية الطحالب عموماً في ظروف استزراع مختلطة غير معقمة، في أماكن تفضل فيها الظروف البيئية سيادة أنواع الطحالب المرغوب فيها على الأنواع

المنافسة، ففي المكسيك تُنتج وحدة تجريبية طناً واحداً في اليوم من البروتين من الطحالب مفردة الخلية – السبيروليا وتطرح للبيع كغذاء صحي، وتجري تربيتها بكميات تجارية صغيرة في جزر هاواي وتايوان وتايلاند، وفي اليابان يستعمل شراب السكر أو المولاس كمصدر للكربون، وتباع الطحالب المجففة والمنتجة في هذه البلدان في هيئة أقراص كأغذية صحية، وقد تبين أن الطحالب الملحية *Dunaliella* يمكن استزراعها في المياه الملحية لإنتاج البروتين، والغلسيرين وبيتا الكاروتين كمُنتجات مهمة في مصر والهند والبيرو وتايلاند والأرجنتين.

7. يمكن الاستفادة من البرك المفتوحة في إنتاج البروتين والمركبات الصناعية، إذ يجري تركيز الطحالب بين 1 إلى 2 غرام/ل من المادة الجافة بطرائق، مثل: التعويم والترشيح والنبذ والتلبيد، ثم تجرى عملية ترسيب وتجفيف للمادة بعد ذلك بمجففات أسطوانية.

الجراثيم تتصف مزارع الجراثيم بنموها السريع في 20 إلى 120 دقيقة لإنتاج البروتين، والخمائر 3 ساعات، عفن الخبز والفطريات 4 إلى 16 ساعة، ويمكن تنمية الجراثيم على النشاء والسكريات، والهيدروكربونات الغازية والسائلة كالميتان والبترول، إلى البتروكيماويات كالميتانول والإيتانول، وتشمل مصادر النتروجين الأمونيا وأملاح الأمونيم واليوريا والنترات والنتررجين العضوي الموجود في المخلفات، وتضاف مصادر لاعضوية.

تنمو جراثيم *Methylophilus metylotrophus* خلال ساعتين وباستمرار على الميتانول ومواد غذائية إضافية تحتوي الأمونيا والمعادن والفسفور والكلسيوم والبوتاسيوم، ويمكن تحويل الإيتانول إلى بروتين بالتحوير الوراثي للجراثيم السابقة فتستعمل الأمونيا، وقد أمكن الحصول على زيادة 3 إلى 5 % فقط من البروتين.

الخمائر يجري إنتاج الخميرة على المستوى التجاري لاستهلاك الإنسان والحيوانات، وتجري تنمية خميرة الخبز على المولاس في صورة مكون غذائي ومادة تكسب النكهة في الطعام وكعامل لتخمر الخبز، تستعمل السكريات كالنشاء

والغلوكوز والسكروز واللاكتوز، والمواد الخام السكريّة كشراب الذرة والمولاس والشرش، وينمو بعضها على الهيدروكربونات ذالت السلسلة المستقيمة والمشتقات النفطية أو من الإيتانول أو الميتانول.

ويمكن تزويد النتروجين بإضافة الأمونيا أو أملاح الأمونيوم إلى وسط المزرعة، وتحتاج أيضاً المعادن واحتياجاتها كالجراثيم السابقة للإنتاج، لا تسبب الأمراض للنباتات أو الحيوانات أو الإنسان.

وتبدو الخمائر أفضل من الجراثيم في إنتاج البروتين، فهي تتحمل الوسط الحمضي 3.5 إلى 4.5 على عكس الجراثيم التي تفضل القيمة القريبة من التعادل، ونظراً إلى حجمها الكبير 0.0005 سم (الجراثيم 0.0001 سم) فيمكن فصلها من الوسط بالتثفيل من دون الحاجة إلى التلبيد.

الأعفان ويمكن تصنيع البروتين بتنمية الفطر *Fusarium graminearum* لغذاء الإنسان، ويستعمل الغلوكوز كمصدر للتغذية، ويتضاعف خلال خمس ساعات ونصف، ويبلغ الناتج نحو 0.5 كغ من الوزن الجاف للخلايا من كل 1 كغ من السكر المستهلك.

ومن الظروف المحددة للنمو نظرياً كمية الضوء التي تمتصها الخلايا، ولكن عملياً يكون معدل النمو دالة لكثافة الضوء المتاح ولكثافة النمو، فاختراق الضوء للخلايا يعتمد على كثافة الخلايا.

أسئلة للمناقشة



- ما أهمية الأحياء الدقيقة في إنتاج الفيتامينات؟.
- أوضح مفهوم: الغسل الإنزيمي، ترويق العصائر بالأحياء الدقيقة.
- هنالك منتجات صناعية يمكن إنتاجها بفعل الأحياء الدقيقة، أهمها:
- عدد من دون شرح أهم محسنات النكهة والطعم والرائحة من الأحياء الدقيقة.
- ما أهم السلالات الجرثومية المنتجة للإنزيمات؟.
- عدد أهم تطبيقات إنزيمات الأحياء الدقيقة.
- ما أهمية الأحياء الدقيقة في إنتاج الأميلاز؟.

المراجع

- **أحمد؛ محمد علي - النواوي، محمد عبد الرزاق (1999).** الفطريات الصناعية. الدار العربية للنشر والتوزيع، مدينة نصر.
- **ماركس، جين Jean L. Marx (2009).** ثورة في التكنولوجيا الحيوية، سلسلة العلوم والتكنولوجيا، مكتبة الأسرة، الهيئة المصرة العامة للكتاب، القاهرة، ترجمة هاشم أحمد محمد، مراجعة ابراهيم عبد المقصود ابراهيم.
- **ياسين، مفيد (2004).** إنتاج الأصبغة الكاروتينية بالطريقة البيوتكنولوجية. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم الأساسية، المجلد 26، العدد (1) 2004، 63-81.

- **Alberto E., Belén E., Hisashi N., Naomichi N., (2000).** Production of vitamin B_{12} in an upflow anaerobic filter continuous reactor using *Acetobacterium* sp., Biotechnology Letters, 22, 503-508.
- **Alberto J., Maria A., José L., (2008).** Phosphoribosyl pyrophosphate synthtase activity affects growth and riboflavin production in *Ashbya gossypii*, BMC Biotechnology, 8,67.
- **Buzzini P., Rossi J., (1998).** Semi-continuous and continuous riboflavin production by calcium-alginate-immobilized *Candida tropicalis* in concentrated rectified grape must, World Journal of Microbiology & Biotechnology, 14, 377-381.
- **Chung H., Fields M., (2006).** Production of riboflavin and vitamin B_{12} by *Bacillus megaterium* ATCC 13639 and *Enterobacter aerogenes* in Corn Meal, Journal of food science, 51, 1514-1517.
- **Dan V., Bahrim G., Nicolau A., (1998).** New food colorans rich in ß-carotene obtained from microbial source. A VI-a conf. of Food technology. Tessalonic, Greece.
- **Fayura L., Fedorovych D., Prokopiv T., Boretsky Yu., Sibirny A., (2007).** The pleiotropic nature of rib80, hit 1, and red6 mutations affecting riboflavin biosynthesis in the Yeast *Pichia guilliermondii*, Microbiology, 76, 55-59.
- **Halbrook E., Fay C., Winter A., Button T., (1950).** Vitamin B_{12} production from poultry house litter and droppings, Journal of nutrition 555-563.
- **Hans M., Diethard, M., (2008).** Overexpression of the riboflavin biosynthetic pathway in *Pichia pastoris*, Microbial Cell factories, 7, 23.
- **Jaleel S., Soeder C., (1973).** Current trends in microalgal culture as protein sources in W. Germany food and feed

application, reprinted from Indian Packer vol. 27: 45 – 57 (1973).

- **Jeroen H., Wilbert S., Masja N., Wouter W., Victor L., Kay B., Douwevan S., Jean-Christophe P., Gerrit E., Eddy J., Graciela S., Fernando S., Tanja J., Pascal H., Michiel K., (2002).** Metabolic engineering of actic acid bacteria for the production of nutraceuticals, Antonie van Leeuwenhoek 82, 217-235.
- **Johnson E., Schroeder W., (1995).** Microbial Carotenoids. Adv. Biochem. Eng. Biotechnology. 53: 119-178.
- **Kalingan A., (1998).** The kinetics of riboflavin secretion by *Eremothecium ashbyii* NRRL 1363, Bioprocess Engineering, 18, 445-449.
- **Koizumi Y., Yonetani A., Maruyama S., (2000).** Production of riboflavin by metabolically engineering *Corynebacterium ammoniagenes*, AppliedMicrobiology and Biotechnology, 53, 674-679.
- **Manjula R., Sureshkumar K., (2000).** Direct biosynthesis of ascorbic acid from glucose by *Xanthomonas campestris* through induced free-radicals, Biotechnology Letters, 22, 407-411.
- **Massaki T., Keiko I., Tatsuo H., (1999).** Production of vitamin B6 in *Rhizobium*, Bioscience Biotechnology Biochemistry, 63, 1378-1382.
- **Mironov A., Karelov D., Solovieva I., Eremina S., Errais-Lopes L., Kreneva P., Perumov D., (2008).** Relationship between the Secondary Structure and the regulatory activity of the Leader region of the riboflavin Biosynthesis Operon in *Bacillus subtilis*, Russian Journal of Genetics, 44, 399-404.
- **Onofri S., Poerio E., Serangeli P., Tosi S., (1997).** L-galactonic acid, γ-lactone on ascorbate production in some yeasts, Antonie van Leeuwnhoek, 71, 277-280.
- **Park E., Zhang, J., Tajima S., Dwiarti L., (2007).** Isolation of *Ashbya gossypii* mutant for an improved riboflavin

production targeting for biorefinery technology, Journal of Applied Microbiology, 103, 468-476.

- **Pujari V., Chandra T., (2000).** Statistical optimization of medium components for improved synthesis of riboflavin by *Eremothcium ashbyii*, Bioprocess Engineering, 23, 303-307.
- **Qiu-Li W., Tao C., Yu G., Xun C., Xue-Ming Z., (2007).** Optimization of riboflavin production by recombinant *Bacillus subtilis* RH44 using statistical designs, Applied Microbiology and Biotechnology, 76, 783-794.
- **Quesada-Chanto A., Afshar A., Wagner F., (1994).** optimization of a *Propionibacterium acidipropionici* continuous culture utilizing sucrose, Applied Microbiology and Biotechnology, 42, 16-21.
- **Quesada-Chanto A., Schmid-Meyer A., Schroeder A., Carvaho-Jonas M., Blanco I., Jonas R., (1998).** Effect of oxygen supply on biomass, organic acids and vitamin B_{12} production by *Propionibacterium shermanii*, World Journal of Microbiology & Biotechnology 14, 843-846.
- **Robert D., Hancock, J., Galpin R., Roberto V., (2000).** Biosynthesis of L-ascorbic acid (vitamin C) by *Saccharomyces cerevisiae*, FEMS Microbiology Letters 186, 245-250.
- **Rouseff R., Nagy S., (1994).** Health and Nutritional Benefits of *Citrus* fruit components. Food Technology, Nov. 125-132.
- **Sabry S., El-Refai A., Gamati S., (1988).** Utilization of oil fraction (Solar) for riboflavin production *Candida guilliermondii* as influenced by culture conditions, Biotechnology Letters, 10, 615-618.
- **Sakai A., Keta M., Tani Y., (2004).** Recent progress of vitamin B_6 biosynthesis, Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo), 50, 69-77.

- **Shimizu S., (000).** 11 Vitamins and related Compound: Microbial Production, Kyoto, Japan.

- **Stahmann K., Revuelta J., Seulberger H., (2000).** Three biotechnical processes using *Ashbya gossypii*, *Candida famata*, or *Bacillus subtilis* compete with chemical riboflavin production, Applied Microbiology and Biotechnology, 53, 509-516.
- **Skinner K., (1975).** Single Cell Protein moves toward market. Chemistry & Engineering: 24 – 26, May 1975.
- **Sugisawa T., Miyazaki T., Hoshino T., (2005).** Microbial production of L-ascorbic acid from D-sorbitol, L-sorbose, L-glucose, and L-sorbosone by *Ketogulonicigenium vulgare* DSM 4052, Bioscience Biotechnology Biochemistry, 69 (3), 659-662.
- **Sugisawa T., Kanamasa S., Kato T., Park E., (2009).** Importance of malate synthase in the glyoxylate cycle of *Ashbya gossypii* for the efficient production of riboflavin, Apllied Microbiology and Biotechnology, 83, 529-539.
- **Sylvia k., Bernward B., (1994).** Vitamin B12 production by *Citrobacter freundii* or *Klebsiella pneumoniae* during Tempeh fermentation and proof of enterototoxin absence by PCR, Applied and Environmental Microbiology, 1495-1499.
- **Takeyama H., Kanamaru A., Yoshino Y., Kakuta H., Kawamura Y., Matsunaga T., (1997).** Production of antioxidant vitamins, β-carotene, vitamin C and vitamin E., by two-step culture of *Euglena gracilis*, Biotechnology and Bioengineering 53, 185-190.
- **Turlo J., Gutkowska B., Herold F., Krzyczkowski W., Blaziwicz, A., Kocjan R., (2008).** Optimizing vitamin B12 biosynthesis by mycelial cultures of *Lentinula edodes*, Ezyme and Microbial Technology, 43, 369-374.

- **Winwright M., (1992).** An Introduction to Fungal Biotechnology, John Wiley and Sons Ltd, Baffins, Lane, Chichester, West Sussex, England.
- **Wolfgang A., (2007).** Enzymes in industry production and applications 3th ed. Wiley-vch, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- **Wormser H., (2002).** Vitamins and Cofactors PSC 3110 – Biochemistry I - Fall 2002 Ph.D.
- **Ye K., Shijo M., Shimizu K., (1996).** Efficient production of vitamin B12 from propionic acid bacteria under periodic variation of dissolved oxygen, Journal of fermentation and Bioengineering, 82, 484-491.
- http://www.enzymedirectory.com/protocols-The University of Georgia.htm

الطاقات المتجددة والبديلة

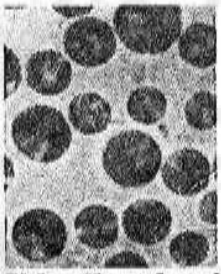
Renewable and Alternative Energies

يتوقع من المتعلم في نهاية الفصل أن يكون قادراً على أن:

- يحدّد أهمية إنتاج الغاز الحيوي في التنمية الريفية.
- يسلسل مراحل إنتاج الديزل الحيوي.
- يقارن بين إنتاج الإيتانول الحيوي والديزل الحيوي.
- يربط بين الوقود الحيوي وحل مشكلات الاحترار.
- يستنتج طرائق لاستعمال المخلفات الزراعية في إنتاج الطاقة.
- يذكر أهم صفات أنماط الوقود الحيوي.
- يقدّر أهمية الطاقة البديلة والمتجددة لحل مشكلات التنمية المستدامة.







Chlorella vulgaris

مفاهيم مفتاحية

- **الطاقة المتجددة والبديلة Renewable and Alternative Energy**

هي مصادر للطاقة غير الوقود الأحفوري أو الطاقة النووية سواء أكانت متجددة أم غير متجددة.

- **طاقة الكتلة الحيوية Biomass Energy**

هي طاقة متجددة طويلة البقاء، تكون في الأساس مادة عضوية، كالخشب، والمحاصيل الزراعية، والمخلفات الحيوانية، وتدعى أحياناً الطاقة الحيوية.

- **الوقود الحيوي Biofuel**

هو مواد سائلة أو غازية أو صلبة يمكنها منح الطاقة، أُنتجت من الكتلة الحيوية كالفحم والخشب والغاز الحيوي والغول.

- **الطحالب الزيتية Oleaginous algae**

أنواع تنمو سريعاً وتنتج كمية كبيرة من الزيت، أو Triacylglycerols TAG، وقد يبلغ إنتاج الهكتار الواحد 30 ألف لتر من الزيت/السنة، في مزرعة كثيفة، وهذه كمية هائلة مقارنة بما تنتجه المحاصيل الزيتية المعروفة.

- **الهضم اللاهوائي Anaerobic Digestion**

هو عملية تفكيك للمواد العضوية بوساطة الأحياء الدقيقة، في غياب الأكسجين، وتفيد في معالجة المخلفات المنزلية والزراعية وغيرها.

- **الغاز الحيوي Biogas**

خليط من غازات الميتان وثنائي أكسيد الكربون أساساً، يتكون بفعل الأحياء الدقيقة في معدة المجترات، وفي المستنقعات وقاع البحيرات، وفي الهاضم.

- **الهدروجين الحيوي Biohydrogen**

غاز لا لون له، مصدر دائم ومتجدد للطاقة، ويتطلب استخلاصه وجود مصدر أولي للطاقة، لا يسبب أي تلوث فهو يتفكك إلى بخار الماء.

710 مفهوم الوقود الحيوي Concept of Biofuel

في الواقع، ليست النار التي اكتشفها الإنسان في غابر الأزمان إلا الطاقة، وهي التي جعلته أكثر قدرة على التحكم في البيئة والأحياء فيها، وعندما استعمل الإنسان الفحم الحجري مصدراً للطاقة بديلاً عن الخشب سارع ذلك في رسم التاريخ البشري، ولكن اكتشاف النفط واستعماله مصدراً للطاقة ثم دخول عصر الذرة جعل الأمم تتنافس في التقدم والتحكم (الشكل 7-1)، وإنْ كان التحدي الأكبر هو مقدرة الإنسان على استغلال هذه المصادر وتطويعها لخدمة التقدم والتصنيع والرفاه، ويرتبط مستقبله بذلك.



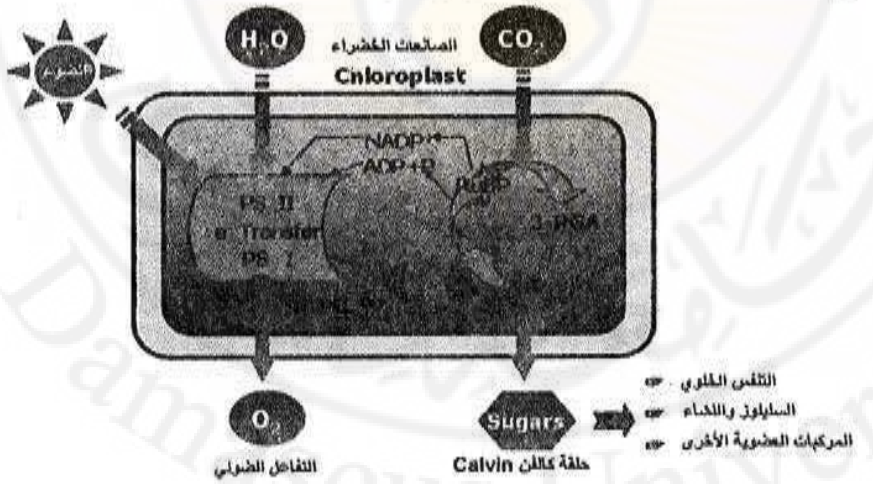
(a. اكتشاف النار، b. الأخشاب مصدر للطاقة، c. الفحم الحجري ، d. النفط).

الشكل 7-1 مصادر الطاقة.

ترتبط بالشمس مصادر مهمة للطاقة، مثل: طاقة الإشعاع الشمسي الواصل إلى الأرض، والطاقة الهوائية، والطاقة الحرارية في البحار، وطاقة التركيب الضوئي، غير أن طاقة الحرارة الجوفية غير متجددة ولا ترتبط مباشرة بالشمس، وكذلك لا علاقة لطاقة المد والجزر بما يحصل داخل الشمس وإن كانت جاذبية الشمس تتصف بدور في تكوينها.

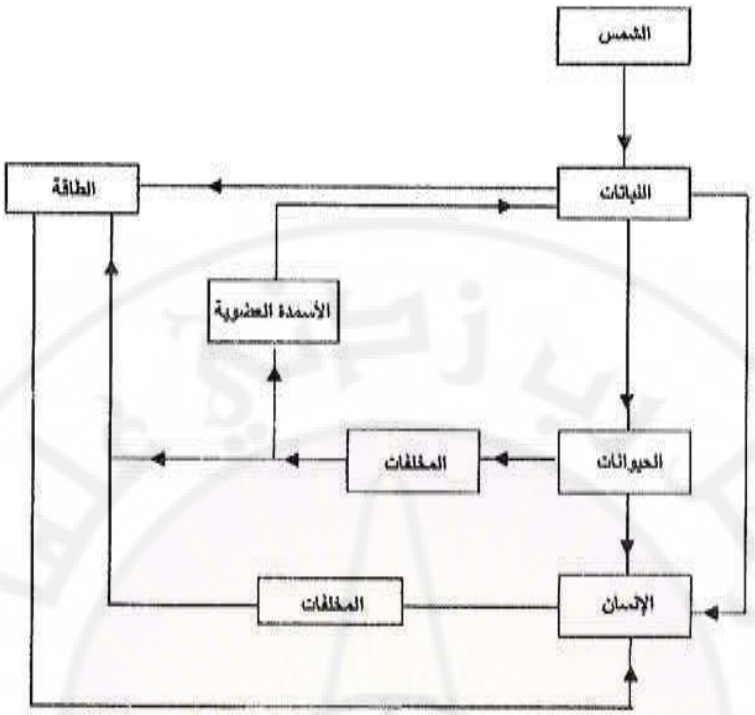
إن الصباغ الضوئية في النباتات الخضراء والطحالب وبعض الجراثيم الصباغية الأرجوانية والخضراء تقتنص ضوء الشمس، وتنتج السكريات وينطلق الأكسجين في الجو (الشكل 7-2)، وليس هذا سوى جزء ضئيل من طاقة الأشعة الشمسية، لا تتعدى 1% في أفضل الأحوال، وإن كانت تبلغ نحو 6% في المختبر، وهو ما يعادل نحو واحد في الألف من مجمل الإشعاع الشمسي الساقط على الأرض (Quercia 1979)، وفق المخطط الموضح بالشكل 7-3.

والتركيب الضوئي يؤدي وظيفتين أساسيتين: صون التوازن في تركيب الغلاف الجوي المحيط بالأرض، ولاسيما التوازن بين الأكسجين وثنائي أكسيد الكربون، وإنتاج الغذاء للأحياء المختلفة في البر والبحر.



$$6\,CO_2 + 12\,H_2O + \text{الضوء Light} \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 + 6\,H_2O$$

الشكل 7-2 وظيفة التركيب الضوئي Photosynthesis.



الشكل 7-3 مخطط إنتاج الطاقة بوساطة التركيب الضوئي.

ويمكن تقسيم مصادر الطاقة غير المتجددة إلى ثلاثة أقسام، كالآتي:

الطاقة الأحفورية	هي الأساسية في مصادر الطاقة اليوم، ويتضمن: الفحم بمختلف أنواعه؛ والنفط؛ والغاز.
الطاقة الكهرمائية	هي الحاصلة في مساقط الأنهار.
الطاقة النووية	هي الحاصلة في المفاعلات النووية التي تعمل في محطات توليد الطاقة الكهربائية باستعمال الحرارة الناتجة عن عمليات الانشطار النووي.

أما الوقود الحيوي Biofuel فهو الطاقة المستمدة من النباتات أو الحيوانات أو الأحياء الدقيقة أو منتجاتها، وهو مصدر من المصادر المتجددة للطاقة، على عكس غيرها من الموارد الطبيعية: كالنفط، والفحم الحجري، والأنواع الأخرى الأحفورية، والوقود النووي، وهو وقود نظيف يستخرج من سكريات الحبوب أو زيوت

النباتات أو دهون الحيوانات، ومن أبرز الدول المنتجة للوقود الحيوي: الولايات المتحدة الأمريكية والبرازيل وألمانيا والسويد وكندا والصين والهند.

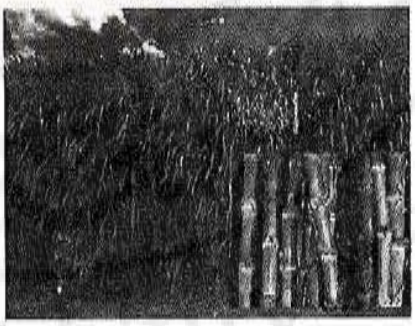
ويفيد في إنتاج الوقود الحيوي مخلفات القش والخشب والسماد وقشور القمح والرز ومخلفات الأغذية وصناعاتها (الشكل 7-4).



بقايا الأخشاب واستثمار الغابات



بقايا المخلفات الزراعية



المحاصيل السكرية – قصب السكر

الشكل 7-4 مصادر الوقود الحيوي.

ما الوقود الحيوي؟.

بالمعنى الواسع، هو جسم صلب أو سائل أو غازي يشتق من الكتلة الحيوية biomass، كان ديزل Rudolph Diesel أول من استعمل الوقود الحيوي من أنواع من المحاصيل في العام 1900 [Ragauskas *et al.* 2006, Demirbas *et al.* 2007]، وأهم أنماط الوقود الحيوي:

الإيثانول الحيوي Bioethanol،

الديزل الحيوي Biodiesel،

الغاز الحيوي Biogas،

الميثانول الحيوي Biomethanol،

الإيثر المثيلي الحيوي Biodimethylether،

Bio-ETBE (Ethyl Tert-Butyl Ether)
Bio-MTBE (Methyl Tert-Butyl Ether)

إثيل وميثيل ثالثي بوتيل الإيثر الحيوي

الوقود الحيوي الصناعي Synthetic biofuels،

الهدروجين الحيوي Biohydrogen،

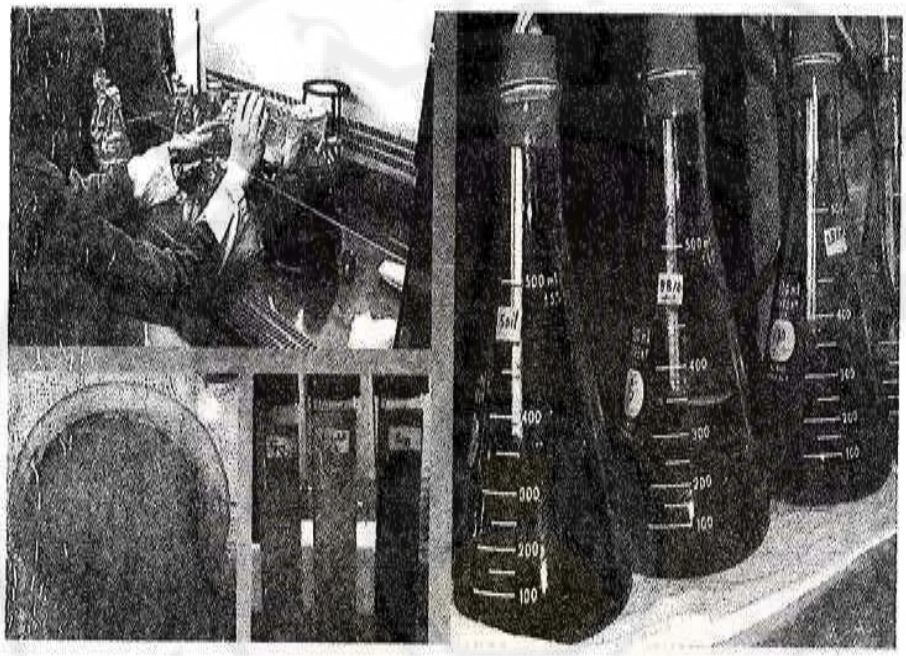
الزيت النباتي النقي Pure vegetable oil.

ويتميز الوقود الحيوي بوجود الأجيال الآتية:

الجيل الأول	يتميز بالاعتماد على المحاصيل الغذائية عموماً، وتختلف عملية التحويل، وتتضمن عمليات التخمر والأسترة. الإيتانول من الذرة والشوندر السكري والذرة الصفراء. الديزل الحيوي من النخيل وفول الصويا وبذر اللفت. الغاز الحيوي.
الجيل الثاني	يتميز بالاعتماد على المحاصيل غير الغذائية كالمخلفات الحيوانية والبقايا الزراعية والغابية الليغنوسليلوزية، والانحلال الحراري السريع. إنتاج الغاز (التغويز) Gasification. الوقود الحيوي السليلوزي. الميتان الحيوي. الإيتانول من القش والخشب والمواد اللغنوسليلوزية. الديزل الحيوي من الجاتروفا.
الجيل الثالث	يتميز بالاعتماد على المحاصيل غير التقليدية. الطحالب. تنمية الطحالب الدقيقة المنتجة للشحوم، الطحالب الزيتية، في برك مفتوحة، أو في المفاعلات الحيوية الضوئية. محاصيل الطاقة الموجهة لغرض الطاقة. التخمر. الأسترة. الانحلال الحراري. الهدروجين الحيوي وإنتاج التيار الكهربائي.

يستأثر الاهتمام بالطحالب كوسيلة مهمة لإنتاج الوقود الحيوي مقارنة بالمنتجات الأخرى من الطحالب أو الوقود الحيوي (الشكل 7-5)؛ الأمر الذي يحدّ الهرولة نحو المحاصيل الغذائية والصراع على الموارد المائية.

لماذا الطحالب؟.

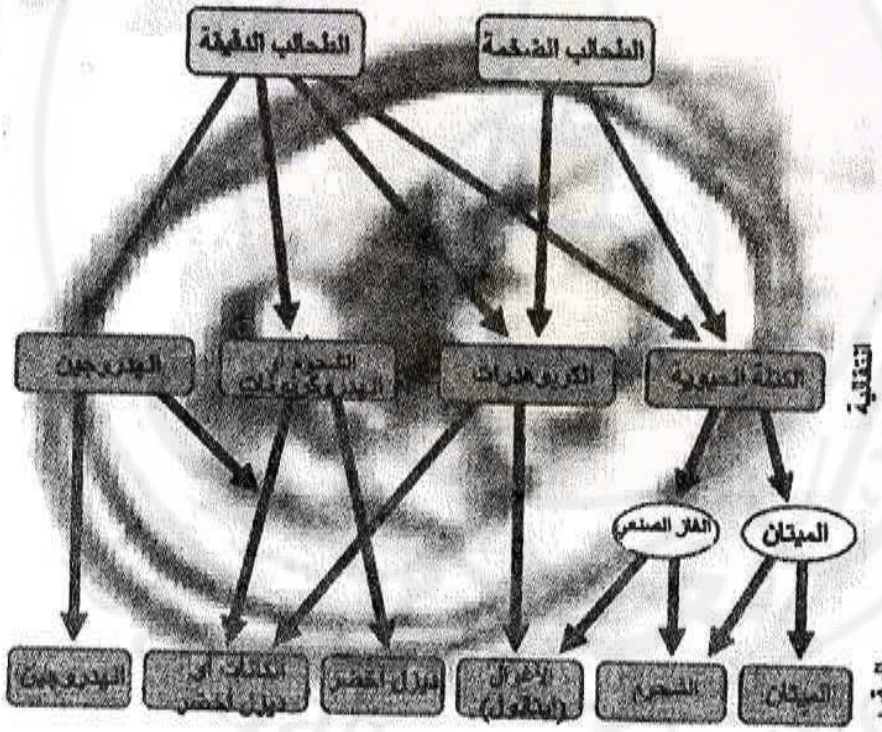


الشكل 7-5 استزراع الطحالب في المختبر.

- تزدهر في المياه المالحة وشبه المالحة والعذبة، وهي متسامحة وتتحمّل الأراضي الهامشية Marginal lands (كالصحارى والأراضي الجافة وشبه القاحلة) غير المناسبة للزراعة التقليدية.
- تستعمل المخلفات السائلة المنزلية والصناعية.
- تستعمل ثنائي أكسيد الكربون الناتج عن المصانع ومحطات توليد الوقود، وبالتالي فهي تسهم في تقليل انبعاثات غازات الاحتراق وحل مشكلة ظاهرة الاحترار.

- يمكن تنميتها بسرعة وإنتاج كتلة حيوية كبيرة، إذ تتضاعف 1 – 3 مرات في اليوم، في الأحواض أو الأوعية أو المفاعلات الضوئية.
- تحتوي الشحوم 20 – 50%، وقد يزيد التركيز على 60% وفقاً للنوع، والزيت متجدد في أي زمان ومكان.
- مصدر للطاقة متعادل كربونياً Carbon-neutral، وهي ذات مكافئ عال يجعلها تتفوق على النفط وبقية الوقود الحيوي، وليس لها تأثير ضار بالبيئة أو باستعمالات الغذاء.
- تفيد كتلتها الحيوية لإنتاج الميتان والأسمدة في الهاضم Digester.
- تفيد في إنتاج البروتين العلفي وغيره.

ويوضح الشكل 7–6 مسالك الوقود من الطحالب الدقيقة والضخمة.



الشكل 7–6 مسالك الوقود الحيوي (Pienkos, 2007).

إن قابلية بقاء الطحالب ونموها في مدى واسع من الظروف البيئية ينعكس إلى حد كبير في التنوع الهائل وأحياناً بوجود نماذج غير اعتيادية من الشحوم والقدرة على تعديلها بفعالية استجابة لتغيرات الظروف البيئية [Farrell *et al.* 2006, Hammerschlag 2006].

زمن الطحالب Algae Time

يمكن الحصول على سلالات فعالة من الطحالب في المواقع المائية المختلفة، ولاسيما المتكيفة لمعالجة المخلفات السائلة أو للعيش فيها.

ومن العوامل المؤثرة في النمو: اصطفاء السلالة، والإضاءة، ودرجة الحرارة، ومعدل التدفق، والإمداد بثنائي أكسيد الكربون (استعمال منافث محطات الطاقة)، والمغذيات الكبرية: C، N، P، Mg، Ca، K، Na، Cl، والمغذيات الصغرية (العناصر الأثرية): Fe، B، Zn، Mn، Mo، Cu، SO4، Co، Cd، Va، Al، Br وغيرها، والفيتامينات، ويمكن تنمية الطحالب البحرية بإضافة المخصبات، وتستعمل الطرائق الميكروبيولوجية لعزل أنواع منها وغربلة الفعال منها وصونه في الأوساط المناسبة.

يمكن أن تتضمن الشحوم، وإن كانت غير محدودة، الشحوم المحايدة Neutral lipids، والشحوم القطبية Polar lipids، والإسترات الشمعية Wax ester، والستيرولات Sterols، والهدروكربونات Hydrocarbons، إضافة إلى مشتقات البرينيل Prenyl derivatives كالتوكوفيرولات Tocopherols، والكاروتانيات Carotetenoids، والتربنات Terpenes، والكينونات Quinones، ومشتقات بيرول الفيتيل Phytylated pyrrole كاليخضور Chlorophylls.

بخلاف النباتات الراقية، توجد أصناف فردية من الشحوم يمكن أن تتركب وتتوضع في خلايا نوعية specific cell من الطحلب، في نسيج أو عضو، ويظهر العديد من هذه الأنماط المتباينة من الدهون في خلية طحلب فردية.

تخزن الطحالب مركبات ثلاثيات أسيل الغليسرين Triacylglycerols TAGs في أجسام شحمية بكميات وافرة جداً مستقرة في سيتوبلاسما الخلية، وتعمل على تراكم Accumulation المركب ضمن صُفيحات الصانعات الخضراء

Chloroplasts في بعض أنواع الطحالب الخضراء، مثل *Dunaliella bardawil*، وقد تنتج الطحالب نمطاً آخر من الشحوم المعتدلة لكن بمقدار ضئيل يقل عن 5% عموماً [greenfuelonline.com 2008].

وينمو العديد من الأنواع الطحلبية بسرعة، وينتج كميات كبيرة من TAG أو الزيت Oil، ولذلك تسمى هذه الأنواع الطحالب الزيتية Oleaginous، ويمكن استخدامها كمصانع خلوية Cell factories لإنتاج الزيوت والشحوم الأخرى اللازمة للوقود الحيوي والمواد الكيميائية [Hannon Gibbs AutoblogGreen 2008]، (الشكل 7-7).



الشكل 7-7 المحتوى من الزيت في الطحالب الدقيقة والمحاصيل التقليدية.

إن إنتاج الزيت سنوياً من 30 ألف لتر أو نحو 200 برميل من الزيت الطحلبي في هكتار من الأرض ربما قابل للإنجاز في مزرعة كثيفة الطحالب الزيتية Oleaginous algae، ويمثل نحو 100 ضعف مقارنة بفول الصويا، ولما كان نحو ثلثي الأرض مغموراً بالمياه يمكن أن تكون الطحالب خياراً عظيماً لاحتياجات الطاقة الشاملة Global energy needs [Chisti 2007].

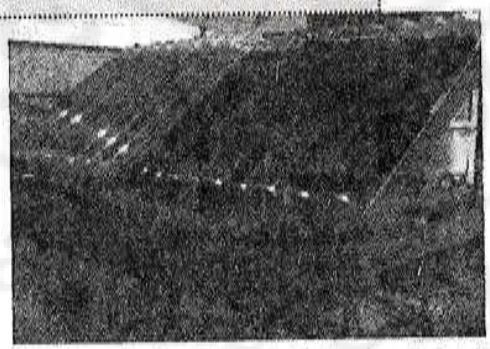
تنتج الطحالب مواد مرافقة ومنتجات ثانوية مهمة، مثل:
البوليمرات الحيوية
والبروتين
وعديدات السكر والصباغ
والعلف الحيواني،
والمخصبات
والهدروجين H_2.

ويمكن تنميتها في المفاعلات الحيوية الضوئية على مدار العام (الشكل 7-8) مع إنتاجية سنوية تزيد عشرة أضعاف تقريباً عما تنتجه مساحة ضيقة من النباتات البرية.

"مصانع" الطحالب الدقيقة

الطحالب الدقيقة تحوّل الطاقة الشمسية وغاز CO_2 إلى طاقة حيوية، ومنتجات للتغذية، وعلفاً ومكونات فعالة حيوياً عالية القيمة، ويمكنها مضاعفة كتلتها الحيوية مرة يومياً. تعد مصادر للزيوت وللبروتينات والسكريات، وهي معامل حيوية كيميائية biochemical factories مصغرة miniature حقيقية وتُظهر كفاءة بالتركيب الضوئي أكثر من النباتات الأرضية [Pirt 1986].

تثبيت الطحالب غاز ثاني أكسيد الكربون: تركيز غاز ثاني أكسيد الكربون (0.033% بالحجم)، وتتميز بقدرتها على اقتناص CO_2 من الغازات المنبعثة المنطلقة من وحدات طاقة احتراق الوقود الأحفوري والمصادر الأخرى، واقتُرحت كطريقة للتخلص من CO_2 من غازات المداخن من محطات الطاقة، وبذلك تفيد في التخفيف من الانبعاثات من غاز البيت الزجاجي (ظاهرة الاحترار)، إذ تقلل انبعاث غاز ثاني أكسيد الكربون (تمتص حتى 90% من CO_2 مع إطلاق الأكسجين). وحدات الطاقة المعتمدة على الفحم (13 - 15% تركيز CO_2 بالحجم)، وحدات طاقة الغاز الطبيعي (8 - 10%).

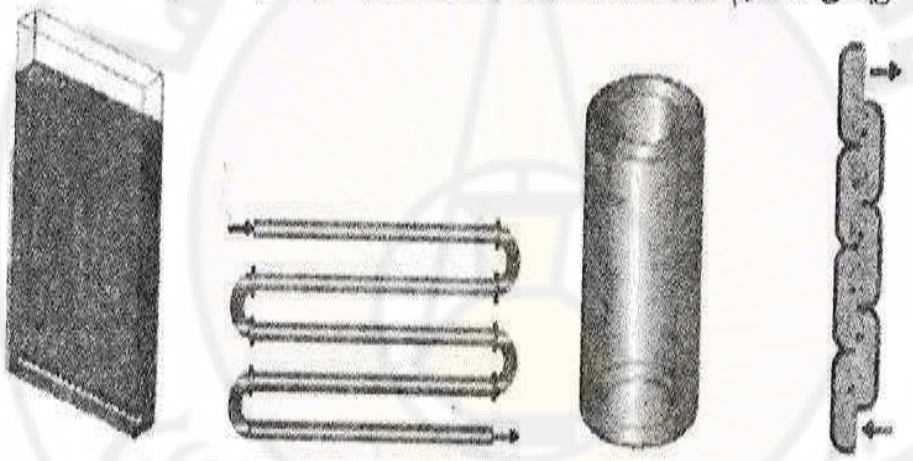


الشكل 7-8 تنمية الطحالب في المفاعلات الحيوية الضوئية Photobioreactors.

وهنالك تقنيات للتنمية الكثيفة Mass Growing techniques يمكن استعمالها في الحصول على كميات ضخمة من الكتلة الحيوية للطحالب، مثل: البرك Ponds والبحيرات lakes، والمحطات الصناعية ووحدات المعالجة والإنتاج، ومتطلباتها بسيطة كالأرض والضوء والماء وثنائي أكسيد الكربون والمغذيات الكبرية والصغرية.

تنتج الطحالب الوقود الخالي من الكبريت مع سمية منخفضة Low toxicity ولا تتنافس بدلالة معنوية مع الغذاء أو الألياف أو الاستعمالات الأخرى، وكذلك لا تتضمن تخريب الموائل الطبيعية Natural habitats.

ويمكن تصميم المفاعلات الحيوية بأنماط متباينة (الشكل 7-9).

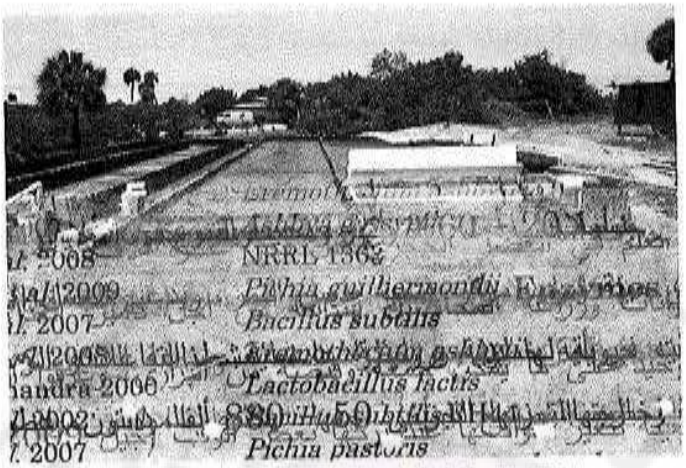


الصفائحي الأنبوبي الحلقي الجسر الجوي الصفائحي

plate tubular annular plate airlift

الشكل 7-9 بعض أنماط المفاعلات الحيوية.

وفي الوقت نفسه، يمكن تنمية الطحالب في النظم المفتوحة (الشكل 7-10)، ويبين الجدول 7-1 مزايا النظم المفتوحة والمغلقة ومساوئها لتنمية الطحالب.



الشكل 7-10 النظم المفتوحة لتنمية الطحالب.

الجدول 7-1 مزايا النظم المغلقة ومساوئها مقارنة بالنظم المفتوحة (Molina et al., 2001; Pulz, 2001).

المقاييس	البرك المفتوحة	المفاعلات الحيوية المغلقة
البناء	بسيط	التصميم معقد أكثر وممتنع
الكلفة	البناء والعمليات أرخص	البناء والعمليات غالية أكثر
معدل النمو (غ/م²/ يوم	منخفض 10 – 25	متباين 1 – 600
فقدان الماء	عال	منخفض
تركيز الكتلة الحيوية غ/ل	منخفض 0.1 – 0.2	عال 2 – 4
ضبط درجة الحرارة	صعب	مضبوط بسهولة
ضبط الأنواع	صعب	سهل
التلوث	خطر عال	خطر منخفض
استعمال الضوء	ضعيف	عال جدا
فقدان CO_2 إلى الجو	عال	معدوم تقريباً
احتياجات المساحة	ضخمة	صغيرة
عمق/ الماء، م	0.3	0.1
السطح: معدل الحجم (م²/م³)	~ 6	400 – 60

يمكننا أن نمتلك طحالب زيتية، أو أن نمتلك طحالب سريعة، ولكن التحدي الذي يواجهنا هو الحصول على الطحالب الزيتية سريعة النمو (الجدول 7-2).

الجدول 7-2 أنواع الطحالب الدقيقة الزيتية.

السلالة	الشحوم% من الوزن الجاف	المرجع
Anabaena cylindrica	7 – 4	Becker, 1994
Ankistrodesmus species	40 – 28	Ben-Amotz & Tornabene, 1985
Botryococcus braunii	86 – 25	Dayananda *et al.*, 2005
Chaetoceros muelleri	24 – 4	Mohapatra, 2006
Chlamydomonas species	23	Feinberg, 1984
Chlorella emersonii	63	Gouveia and Oliveira, 2009
Chlorella minutissima	57	Gouveia and Oliveira, 2009
Chlorella protothecoides	55 – 15	Xiong *et al.*, 2008
Chlorella sorokiana	22	Gouveia and Oliveira, 2009
Chlorella vulgaris	56 – 14	Gouveia and Oliveira, 2009
Cyclotella species	42	Sheehan *et al.*, 1998
Dunaliella bioculata	8	Becker, 1994
Dunaliella salina	28.1	Mohapatra, 2006
Dunaliella tertiolecta	42 – 36	Tsukahara & Sawayama, 2005
Hantzschia species	66	Sheehan *et al.*, 1998
Isochrysis galbana	21.2	Mohapatra, 2006
Monallantus salina	72	Shifrin and Chisholm, 1981
Nannochloropsis species	28.7	Gouveia and Oliveira, 2009
Neochloris oleoabundans	65 – 35	Tornabene *et al.*, 1983
Nitzschia closterium	27.8	Mohapatra, 2006
Nitzschia frustulum	25.9	Mohapatra, 2006
Phaeodactylum tricornutum	30 – 20	Chisti, 2007
Scenedesmus dimorphus	40 – 16	Becker, 1994
Scenedesmus obliquus	14 – 12	Becker, 1994
Scenedesmus quadricauda	19.9	Mohapatra, 2006
Selenastrum species	21.7	Mohapatra, 2006
Skeletonema costatum	19.7	Mohapatra, 2006
Spirulina maxima	7 – 6	Becker, 1994
Spirulina plantensis	16.6	Feinberg, 1984
Stichococcus species	33	Sheehan *et al.*, 1998
Tetraselmis maculata	3	Becker, 1994
Tetraselmis suecia	23 – 15	Chisti, 2007; Huntley & Redalje, 2007

720 الإيثانول الحيوي Bioethanol

يعتمد الإنتاج الحيوي للإيثانول، الأكثر شيوعاً، على الدور الذي تؤديه الأحياء الدقيقة وإنزيماتها في تخمر السكريات والنشويات، باستعمال قصب السكر والذرة والقمح والحبوب السكرية الأخرى، ويمكن استعماله في وسائل النقل بمزجه مع البنزين بنسبة 5% حجم/ حجم، وتنتج البرازيل والولايات المتحدة الأمريكية معظم الإيثانول العالمي (نحو 90% منه)، ويقدر إنتاج الإيثانول بنحو 125 بليون لتر في عام 2017، أي ضعفي إنتاج عام 2007 من الإيثانول.

يعد الإيثانول من أكثر أنواع الوقود الحيوي انتشاراً في العالم، ولاسيما في البرازيل، ويسمى الإيثانول الحيوي أيضاً البنزين الحيوي Biogasoline، وهو أليف للماء وقادر على امتصاص الرطوبة الموجودة في الهواء الجوي؛ إضافة إلى قدرته الكبيرة على إعطاء الطاقة اللازمة للأكسدة؛ مما يسبب الصدأ في تجهيزات الوقود وخطوط الأنابيب وحجرات الاحتراق، ويتطلب تعديل المحركات التي تستعمل الإيثانول الحيوي كوقود، ولذلك لا يُستعمل الإيثانول الحيوي في الطائرات، باستثناء الطائرة من النوع Embraer EMB202 Ipahema، وإنْ كان يتطلب استعماله وجود خزانات وقود أكبر مقارنة بما هي عليه في حال البنزين من أجل الانتقال المسافة ذاتها؛ بسبب انخفاض طاقته بمقدار 1 – 3 لكل وحدة حجم.

والإيثانول الحيوي هو الوقود الأنسب للمزج في محركات البنزين بسبب النسبة العالية من الأوكتان Octane والنسبة المنخفضة من السيتان Cetane (هكسا ديكان $C_{16}\ H_{34}$)، إضافة إلى الحرارة العالية للبخار الناتج عن عملية الاحتراق الذاتي في المحرك المعتمد على الديزل، لذلك يكون مزيج الإيثانول الحيوي والديزل أفضل لتحسين عملية الاحتراق والمساعدة في تحسين الاحتراق الذاتي.

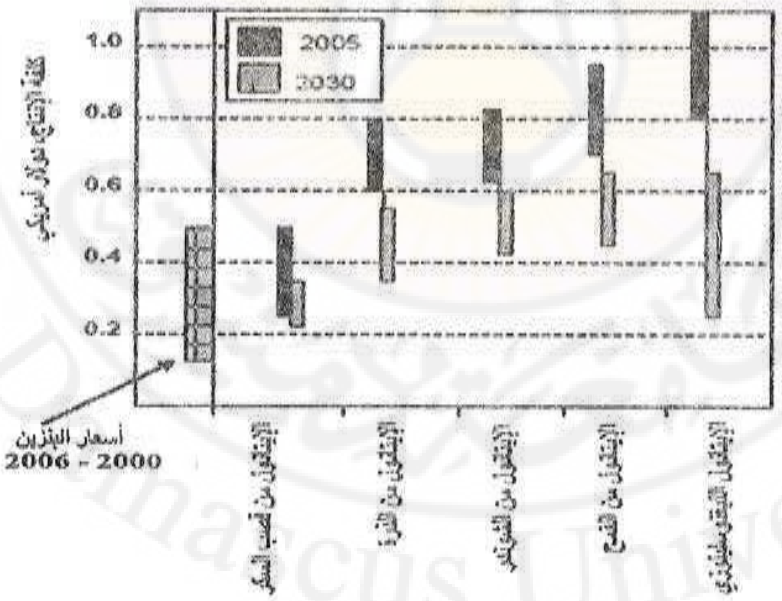
والحل المستديم لإنتاج الإيثانول الحيوي اليوم هو استعمال الطحالب والكتلة الحيوية الليغنوسليلوزية؛ إذ إن الإيثانول الحيوي الطحلبي وقود قابل للتجديد يمكنه منافسة أنماط الوقود الحيوي الأخرى والوقود الأحفوري، وإنتاجه لا يرتبط بالموارد

الغذائية وباقي المحاصيل الزراعية [Chisti 2008]، ويمكن إنتاج الإيتانول من الكتلة الحيوية البحرية كمصدر بديل للطاقة فهي تزيد على 50% من الكتلة الحيوية العالمية (Kim and Dale 2005).

تقسم المواد الأولية المستعملة في إنتاج الإيتانول الحيوي إلى ثلاثة أنماط:

▪ المادة الأولية الحاوية السكروز	الشوندر السكري وقصب السكر والذرة الحلوة
▪ المواد النشوية	الذرة والقمح والشعير
▪ الكتلة الحيوية الليغنوسليلوزية	الخشب والقش والأعشاب

ولما كان تأمين المادة الأولية لإنتاج الإيتانول الحيوي يتفاوت بين فصل وآخر، ويتعلق بالموقع الجغرافي وبكلفة المواد الأولية التي قد تبلغ نصف تكاليف الإنتاج، فإن الكتلة الحيوية الليغنوسليلوزية Lignocellulosic biomass هي من أكثر المواد الأولية المرشّحة للاستعمال بسبب وفرتها الكبيرة وانخفاض كلفتها (الشكل 7-11)، وإن كانت تقنيات الإنتاج من مصادر الكتلة الحيوية السليلوزية قيد التطوير، ولا يزال الإنتاج الفعلي غير مطبق للأغراض التجارية.



الشكل 7-11 مقارنة بين تكاليف إنتاج الإيتانول الحيوي والبنزين.

ويستأثر إنتاج الإيثانول الحيوي بأهمية كبيرة بتحويل عديدات السكر الموجودة في القش والأوراق والبقايا النباتية، وتبلغ نحو ثلثي الكتلة الحيوية لقصب السكر، وتعدّ آسيا المنتج الأكبر للإيثانول الحيوي من بقايا المحاصيل ومخلفاتها، ثم أوروبا، إذ تبلغ الكتلة الحيوية الليغنوسليلوزية 10% من الكتلة الحيوية التي تسبّب غالباً مشكلات بيئية نتيجة التراكم، ويمكن تطوير إنتاج الإيثانول الحيوي والحصول على كميات تسد الحاجة العالمية من الوقود الحيوي عند تعميق الدراسات على مصادر مختلفة من الكتلة الحيوية الليغنوسليلوزية، وإدخال طرائق عديدة ومتنوعة تساعد على التفكيك الكيميائي لهذه المخلفات ضمن ظروف المختبر، والفهم الجيد لبنية هذه المخلفات؛ مما يساعد على اكتشاف أساليب جديدة للتعبير المورثي التي تساعد بدورها على إيجاد طرائق مستحدثة تفيد في تفكيك المخلفات النباتية.

يتضمن إنتاج الإيثانول الحيوي من الكتلة الحيوية الليغنوسليلوزية ثلاث مراحل (Mabee *et al.*, 2010):

- المعالجة الأولية: تكون هذه المرحلة أساسية للتحويل الحيوي الناجح للمواد الليغنوسليلوزية إلى الإيثانول، حيث تساعد على فصل أجزاء الجدر الخلوية النباتية، السليلوز والهيميسليلوز والخشبين، التي تمنع تفكك السكريات النباتية في المعالجة الحيوية المختلفة، مثل عمليات التفكك الإنزيمي والتخمر (Gamez *et al.*, 2006)؛ لذلك يكون مهماً تقليل التفاعل بين المكونات الأساسية للجدر لجعلها أكثر حساسية وقابلية للتفكك والتخمر إلى مركبات بسيطة، وكذلك لابد من اختيار أفضل طرائق المعالجة الأولية التي تختلف بحسب المادة الأولية مع الأخذ في الحسبان تأمين الشروط الفضلى للطريقة المختارة التي تفيد في الحصول على أكبر كمية من السكريات القابلة للتفكيك، ومن أهم طرائق المعالجة الأولية القوة البخارية، وهي مثالية لمعالجة مخلفات قصب السكر (Handriks and Zeeman, 2009)، والغسيل القلوي (Balat *et al.*, 2008)، والتفكيك بفعل فوق أكسيد الهدروجين

القلوي والحموض المخففة، والأكسدة الرطبة، والماء الساخن (Martin *et al.*, 2008)، وفقاً لنوع المخلفات الليغنوسليلوزية.

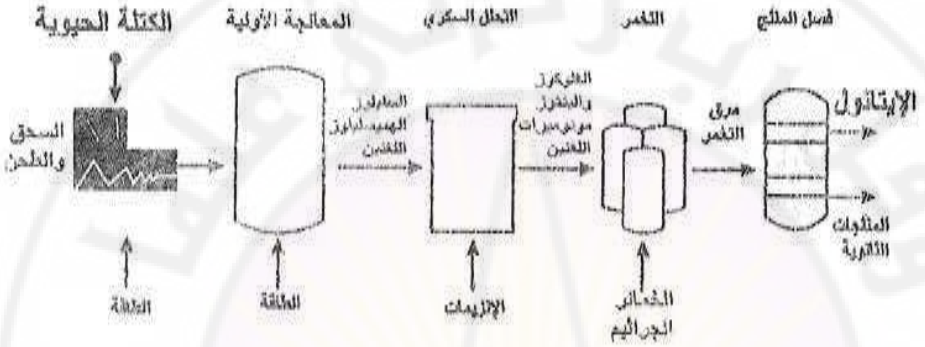
- المرحلة الإنزيمية: تفيد سلالات معينة من الأحياء الدقيقة المناسبة لعمليات التفكيك الإنزيمي والتخمر في إنتاج إنزيمات الزيلاناز Xylanase وفيروليول إستراز Feruloyl esterase (Meyer *et al.*, 2009)، بالحلمهة والتخمر و/ثم تحويل السكريات وتخمرها، ومن أهم الأحياء الدقيقة المستعملة في تفكيك مركبات السليلوز والهميسليلوز والخشبين [Damaso *et al.*, 2003]:

الفطريات	*Penicillium*	السليلاز Cellulase
	Trichoderma	الهميسليلاز Hemicellulase
	Aspergillus	الليغنيناز Ligninase
الشعّيات	*Micromonospora*	لها قدرة كبيرة على تفكيك المواد الليغنوسليلوزية في التربة والسماد.
	Streptomyces	
بعض أنواع الجراثيم اللاهوائية	*Cellulomonas*	إنزيماتها مفككة للروابط β- 4،1 غليكوزيدية، مما يساعد على تفكيك هذه المركبات المعقدة إلى الغلوكوز.
	Clostridium	

- المرحلة الثالثة: هي مرحلة تخمر الغلوكوز الناتج عن التفكيك الإنزيمي بالتزامن مع عملية التفكيك متحولاً إلى الإيتانول، وتكون مخاطر التلوث الجانبي في هذه المرحلة أقل بسبب وجود الإيتانول والظروف اللاهوائية والتراجع المستمر لجزيئات الغلوكوز، وتكمن الصعوبات في تباين درجة الحرارة المناسبة للتفكيك الإنزيمي (45 – 50 س°) والتخمر الكحولي (28 – 35 س°)، ومن الأحياء الدقيقة المستعملة في التخمر *Saccharomyces cervisiae* (AL-Media *et al.*, 2007)، وهنالك محاولات لتطوير القدرة الوراثية لبعض الأنواع في تخمير الغلوكوز والزيلوز (Stambulk *et al.*, 2008).

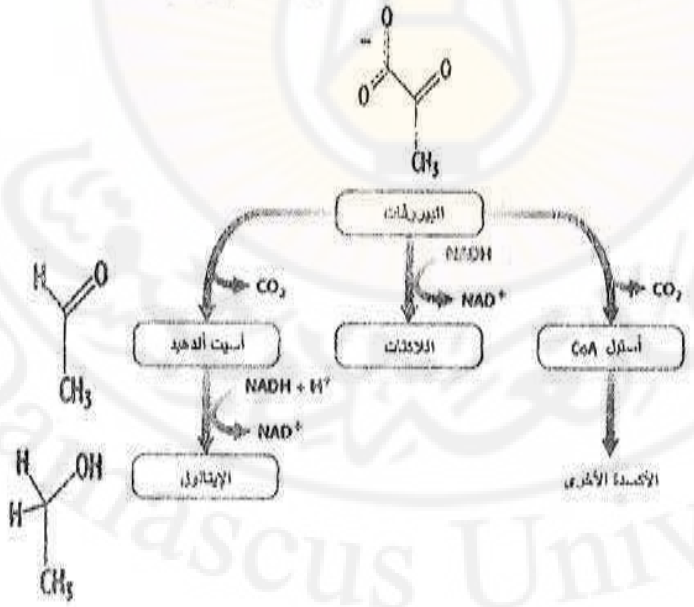
الإيتانول الحيوي وقود يشتق بوساطة الاستحالة التخمرية Fermentative transformation للسكر (الغلوكوز، والنشاء أو الكتلة الحيوية)، وبديل تام عن الغازولين في المركبات المرنة -- الوقود في تراكيز المزج المختلفة فوق 100%، في الكميات الأصغر للمزج يمكن استعماله في السيارات التقليدية غير المعدلة.

ويوضح الشكل 7-12 مراحل إنتاج الإيتانول الحيوي من الكتلة الحيوية.



الشكل 7-12 مراحل إنتاج الإيتانول الحيوي من الكتلة الحيوية.

ويوضح الشكل 7-13 مخطط تحول البيروفات إلى الإيتانول.



الشكل 7-13 مخطط تحول البيروفات إلى الإيتانول.

يستأثر استعمال خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* بأهمية كبيرة في إنتاج الغول الصناعي وإنتاج الطاقة، ويُفضل اختيار السلالات ذات الصفات الوراثية الجيدة والإنتاج العالي من الغول، ويجب أن تكون قليلة تكوين الأبواغ؛ لأن ذلك يغيّر الصفات الوراثية والفيزيولوجية للسلالة، كما يؤدي التكاثر الجنسي إلى فقد الصفات المطلوبة نتيجة تضاعف الصيغة الصبغية Diploid.

ويمكن الحصول على سلالات نقية من خميرة الخبز بفصل الخلايا أو بتنمية خلية وحيدة من الأغار المائل في الوسط المناسب، وتُضاف كمية كبيرة من بادئ الخميرة بنسبة 4 – 6% من سائل المخمر، وتحتاج الخميرة كميات قليلة من السكر في الظروف الهوائية، وتنجح عملية تكيّف اللقح تدريجياً في وسط المُلت والحضن حتى الوصول إلى الحجم المطلوب للتخمر.

تؤدي زيادة تركيز السكر على 18% إلى تخفيض نمو الخميرة وبطء عمليات التخمر، وربما تؤدي إطالة العملية إلى نمو الأحياء الدقيقة غير المرغوب فيها، وتكون العملية غير اقتصادية عند انخفاض نسبة الغول عن 10%.

تنمو الخميرة جيداً عادة في رقم للهدروجين pH قريب من التعادل، ولكن رقم الهدروجين 4 – 4.5 هو المناسب للتخمر، ويُستعمل حمض الكبريت لتحقيق ذلك، يكون الهواء في مراحل التخمر الأولى عاملاً لتنمية الخميرة بنشاط، ثم تجري العملية في الظروف اللاهوائية، ويتراوح تركيز الكحول بين 6 و 13% حجماً الذي يركّز إلى 95 – 99%.

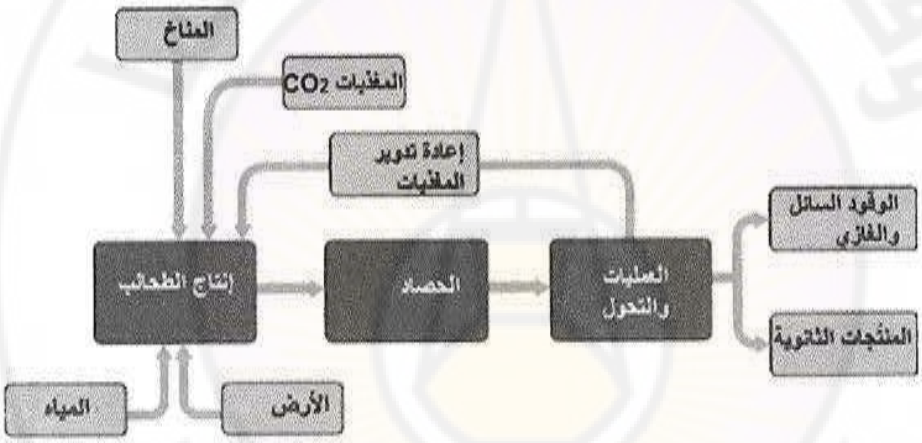
721 العوامل المؤثرة في الإنتاج Effective factors on Production

يؤثر في إنتاج الغول العوامل الآتية: عمليات تحويل المواد النشوية والسليلوزية إلى مواد سكرية، والتركيز المناسب من السكر، ورقم الهدروجين المناسب لنشاط الخميرة، ودرجة الحرارة المناسبة، وتثبيط الأحياء الدقيقة غير المرغوب فيها، إضافة إلى جودة السلالة المستعملة، والظروف اللاهوائية، وإجراء التقطير مباشرة بعد التخمر.

ويُستعمل في الإنتاج التجاري للإيثانول:

- مخلفات صناعة النشاء والغلوكوز والمواد النشوية.
- مخلفات مصانع العصائر والبطاطا.
- مخلفات مصانع السكر والورق والألبان.
- مخلفات مصانع الأخشاب.
- مخلفات المحاصيل الزراعية.

ويمكن إجمال عمليات إنتاج الإيثانول الحيوي من الطحالب بدءاً من المكونات الأساسية للتنمية، وكذلك العوامل المؤثرة في الإنتاج، كالآتي (الشكل 7-14):



	الأرض	المياه	المناخ
الموارد والقياسات البيئية	الطبغرافية	الموقع	الإشعاع الشمسي
	استعمال/غطاء	التزويد/الطلب	درجة الحرارة
	الملكية	الملوحة	التبخر
	التربة	الحصة	العواصف الشديدة
	الجيولوجيا		

الشكل 7-14 الموقع المفتاحي ومصدر العناصر لإنتاج الوقود الحيوي الطحلبي (Ferrell *et al.*, 2010).

ويبين الجدول 7-2 الأحياء الدقيقة المنتجة للإيثانول.

الجدول 7-2 الأحياء الدقيقة المنتجة للإيثانول.

الجراثيم	
Clostridium thermohydrosulfuricum	أليفات الحر
Clostridium thermocellum	أليفة الحرارة، تحلل السليلوز
Thermoanaerobacter ethanolicus	تخمر الزيلوز والنشاء*
Zymomonas mobilis	يخمر النمط البري الغلوكوز والفركتوز والسكروز فقط، مع إنتاجية عالية.
الخمائر	
Candida pseudotropicalis, C. tropcalis	تخمر الزيلوز *
Candida species	تخمر الزيلوز والسلوبيوز *
Kluyveromyces lactis †	تخمر اللاكتوز في مخلفات الألبان*
Kluyveromyces marxianus	تحلل الإينولين (عديد الفركتوزان)
Pachysolen tannophilus	تخمر الزيلوز *
Pichia stipites	تخمر الزيلوز *
Saccharomyces cerevisiae	تخمر معظم السلالات الغلوكوز والسكروز والفركتوز والمالتوز والمالتوتريوز فقط.
S. cerevisiae var. distaticus	تحلل النشاء
Schwanniomyces alluvius	تحلل النشاء
الفطريات الخيطية	
Fusarium species	تخمر الزيلوز *
Monilia species	تحلل السليلوز والزيلان
Mucor species	تخمر الزيلوز والأربينوز

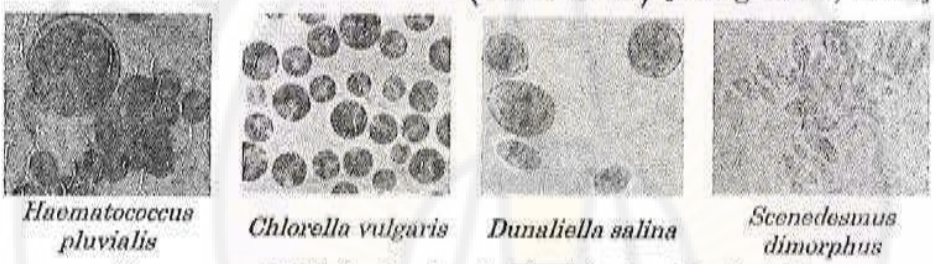
* إضافة إلى الهكسوز الشائع وحيدات السكر وثنائيات السكر.

† لا يُظهر تأثير Crabtree.

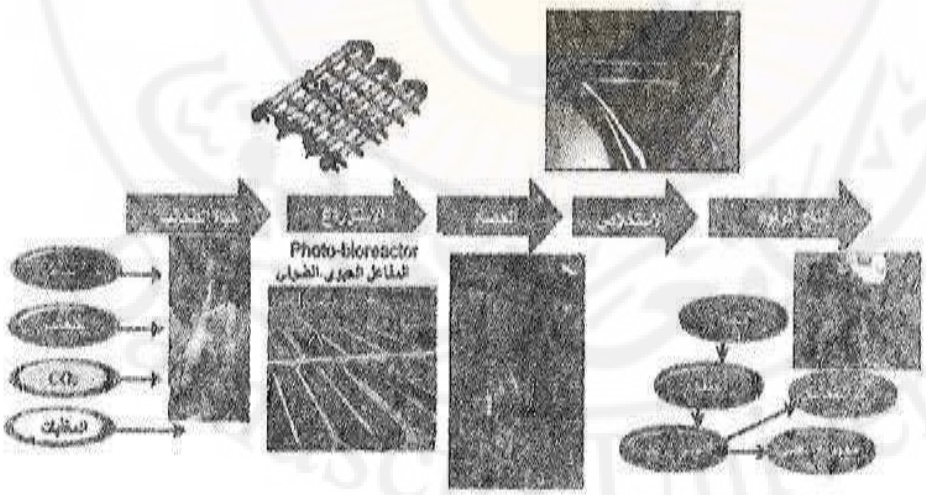
730 الديزل الحيوي Biodiesel

731 من الطحالب إلى الديزل الحيوي From Algae to Biodiesel

هنالك العديد من الطحالب الغنية جداً بالزيت الذي يمكن تحويله إلى وقود حيوي (الشكل 7-15)، وتتجاوز محتويات الزيت في بعض الطحالب 80% من الوزن الجاف للكتلة الحيوية [Chisti 2007, Banerjee *et al.*, 2002]، ويمكن إنتاج نحو 100 غ /م^3 من المادة الجافة الطحلبية في جهاز تنمية بسيط كالمفاعل الضوئي [Patil *et al.*, 2005]، أما المحتوى العالي من الزيت في الطحالب فيُنتج نظرياً 100 ضعف مقارنة بما ينتجه فول الصويا في وحدة المساحة من الأرض [Kong *et al.*, 2007] (الشكل 7-16).



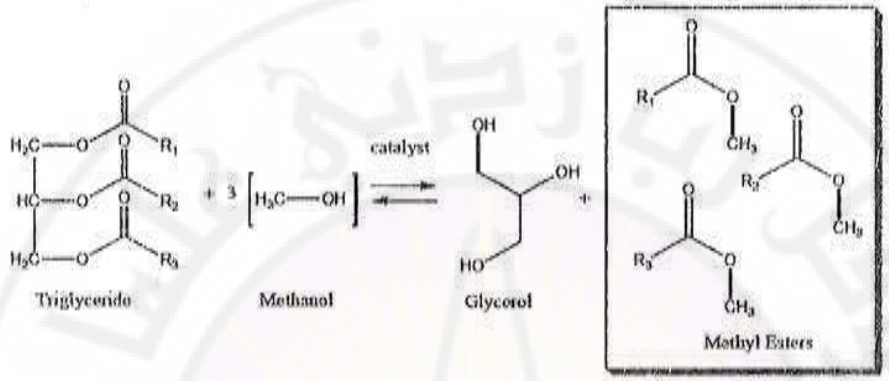
الشكل 7-15 بعض أنواع الطحالب المستزرعة (Benemann 2008).



الشكل 7-16 استراتيجية تحول مستخلصات الطحالب إلى الوقود الحيوي.

يجب ضغط كتلة الطحالب بعد ترشيحها من الماء للحصول على معجون الطحالب، ثم يذاب بالهكسان Hexane، ويفصل الزيت عن المذيب بالتقطير (الشكل 7-17).

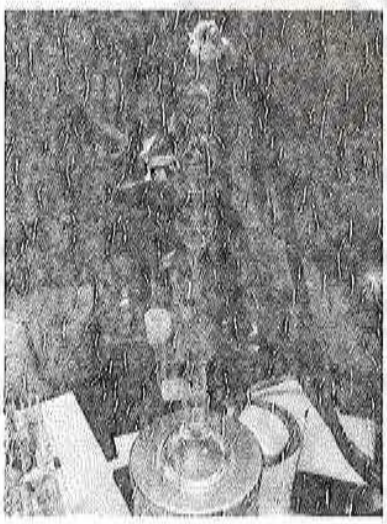
يتكوّن الديزل الحيوي من إسترات الألكيل، ويكون تفاعل الأسترة كالآتي:



"الديزل الحيوي"

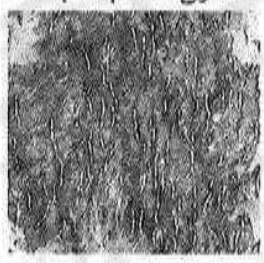
أسترات متيلية الغليسرين الميتانول الغليسريد الثلاثي

يُنتج الديزل الحيوي بعملية أسترة Esterification grading الغول الأحادي، وفيه تتفاعل الغليسريدات الثلاثية مع الغول الأحادي (غالباً الميتانول أو الإيتانول) مع التحفيز Catalysis بالقلويات أو الحموض أو الإنزيمات.





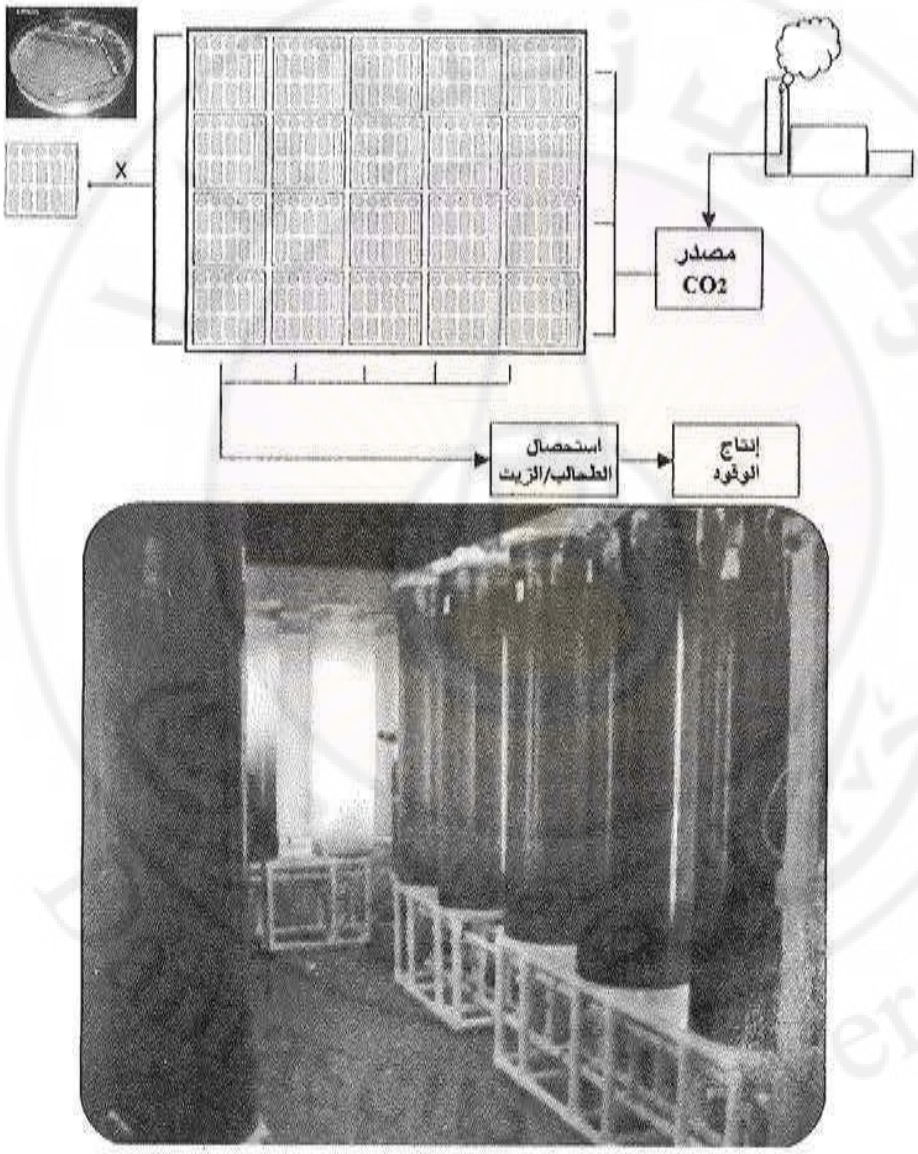
مسحوق الطحالب المجففة.



معجون الطحالب قبل تحويله إلى الوقود الحيوي.

الشكل 7-17 أسترة الزيت الطحلبي وإنتاج الديزل الحيوي.

يمكن تنمية الطحالب الدقيقة في المختبر باستزراعها على الآغار بطريقة التخطيط، فتنمو المستعمرات المعزولة، ثم نقلها تدريجياً وفقاً للأحجام إلى المفاعلات الضوئية ومحطات الإنتاج الكبيرة المفتوحة أو المغلقة (الشكل 7-18)، لغرض الإنتاج التجاري للديزل الحيوي [Ferrell *et al.*, 2010].



الشكل 7-18 نُظم استزراع الطحالب لإنتاج الوقود الحيوي (Ferrell *et al.*, 2010).

740 الغاز الحيوي Biogas

الغاز الحيوي أو الميتان Methane غاز أخف من الهواء قابل للاحتراق، وينتج عن عملية التخمر، في الواقع هو خليط من الغازات، عادة ثنائي أكسيد الكربون والميتان، وهو غاز عديم اللون وله رائحة تميزه لاحتوائه نسبة ضئيلة من غاز الكبريت.

وتُنتج الميتان مجموعة نوعية من الأحياء الدقيقة في الظروف اللاهوائية Anaerobic conditions، وتوجد هذه الأحياء في معدة المجترات العاشبة (الشكل 7-19)، وتبدو قادرة على إنتاج كميات كبيرة من الغاز الحيوي، فالغاز الحيوي لا تنتجه البقرة أو الشاة، ولكن مليارات من الجراثيم تفعل ذلك الجهاز الهضمي لهذه الأحياء.

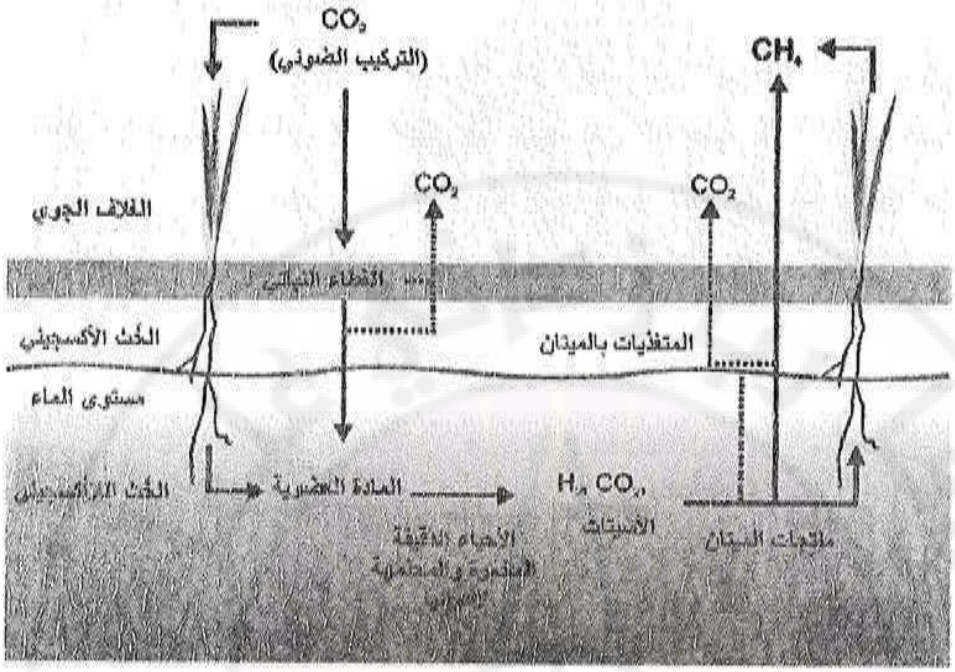


الأغنام الماعز الأبقار

الشكل 7-19 تربية المواشي في المزارع.

وتمتلك الأحياء الدقيقة المنتِجة للميتان، إلى جانب كونها تعيش من دون أكسجين، ميزة بارزة: إنها بين عدد قليل من الأحياء التي تهضم السليلوز Cellulose، المقوّم الأساسي للألياف النباتية، وميزة نوعية أخرى لها أنها تبدو حساسة جداً للظروف في بيئاتها، كالحموضة ودرجة الحرارة وكمية الماء وغيرها.

ويظهر الغاز الحيوي في المستنقعات وقاع البحيرات والبرك وتجمعات المخلفات النباتية والحيوانية، حتى أن غاز الميتان الذي ينتشر على نحو واسع في تلك المواقع يسمى غاز المستنقعات، حيث تتجمّع المواد العضوية المتفككة في الظروف اللاهوائية والرطوبة (الشكل 7-20).

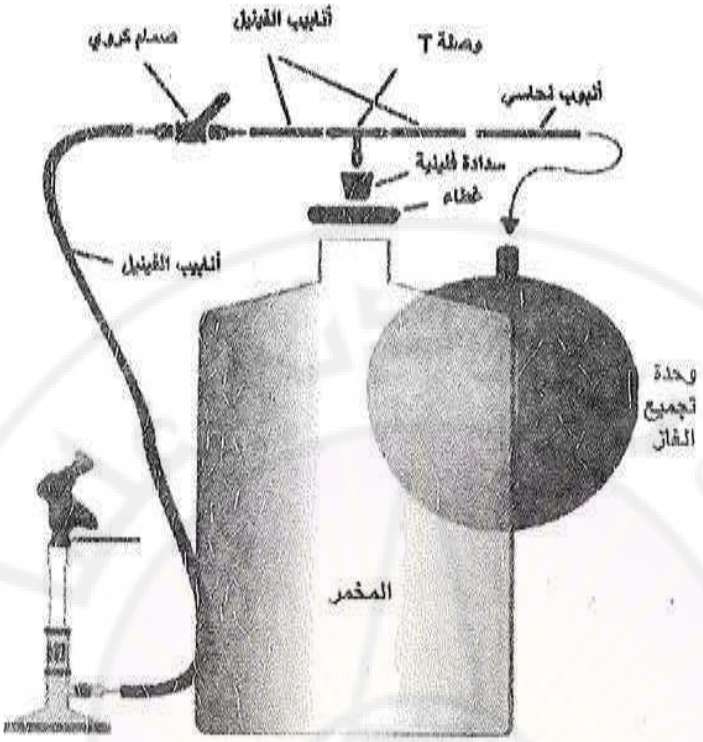


الشكل 7-20 مخطط تدوير الكربون والميثان في المستنقعات (Lloyed *et al.*, 1998).

يمكن جمع الغاز الحيوي باستعمال خزان بسيط، حيث يوجد السماد الحيواني Animal Manure المخزون في خزان مغلق، فيتجمّع وقود ممتاز يفيد في تشغيل مواقد الطبخ والأفران، ويمكن استعماله محل الغاز الطبيعي.

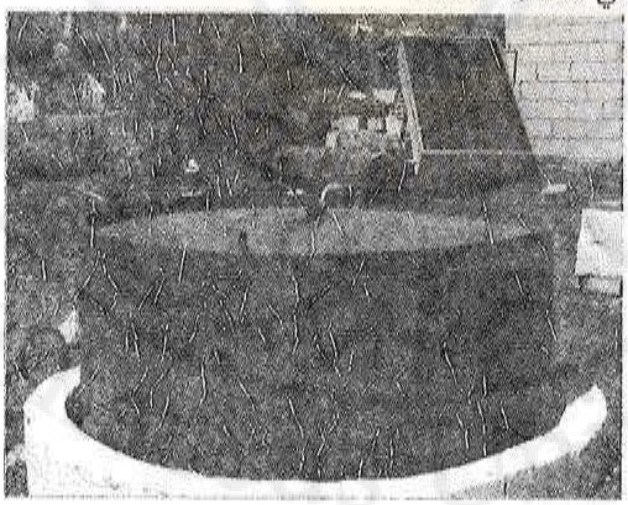
وما دام إنتاج الغاز الحيوي يرتبط باستعمال الأعشاب الحولية أو المعمرة التي تنمو عادة كل عام، فهو مصدر للطاقة المتجددة، مقارنة بالغاز الطبيعي المستعمل في معظم المنازل الذي لا يعد طاقة متجددة، فالغاز الطبيعي ينتج عن البقايا النباتية والحيوانية الأحفورية – العملية التي استغرقت ملايين السنين.

يُنتج الغاز الحيوي باستعمال الهضم اللاهوائي Anaerobic Digestion الذي يتضمن عدداً من العمليات تعمل الأحياء الدقيقة فيها على تقويض المادة العضوية، ويمكن جمع الغاز الناتج على نطاق ضيق باستعمال جهاز بسيط يوضحه الشكل 7-21.



الشكل 7-21 جهاز جمع الغاز الحيوي.

كما أن إنتاج الغاز الحيوي يُنجز باستعمال الهواضم الصغيرة (الشكل 7-22)، أو الكبيرة، أو في معامل ضخمة.



الشكل 7-22 الهاضم Digester المنتج للغاز الحيوي.

إضافة إلى الحظيرة ودورة المياه، تتكون وحدة إنتاج الغاز الحيوي من: المخمر، خزان الغاز الحيوي الناتج، حجرة خلط مواد التغذية، غرفة الخروج ومنطقة تخزين وتجفيف المستحلب المتخمر، شبكة توصيل الغاز ومعدات استعماله.

يجب اختيار مكونات وحدة الإنتاج وضبطها بهدف إنتاج كمية ملائمة من الغاز الحيوي (الجدول 7-3)، وإنتاج سماد عضوي جيد، والتخلص من الملوثات بكلفة منخفضة، ولا بد من الأخذ في الحسبان مسائل مهمة (قرضاب وخويص 2010)، مثل: تأمين مساحة الأرض المناسبة، وملاءمة نوع التربة للإنشاء، وقرب مصادر المخلفات، وقرب مناطق الاستعمال، وتأمين مصادر المياه اللازمة.

يختلف نوع وحدة إنتاج الغاز الحيوي وحجمها باختلاف عوامل، أهمها: حجم الإنتاج المطلوب من الغاز الحيوي، ونوع الكتلة الحيوية المستعملة وتركيزها، والتقنيات المستعملة [www.apo-tokyo.org/aple-publi/biogas/b].

الجدول 7-3 مكونات الغاز الحيوي.

محتوى الغاز الحيوي العنصر		المحتوى%
الميتان	CH_4	70 – 50
ثنائي أكسيد الكربون	CO_2	45 – 25
النتروجين	N_2	3 – 0.5
الهدروجين	H_2	10 – 1
أحادي أكسيد الكربون	CO	0.1
الأكسجين	O_2	0.1
غاز الكبريت	H_2S	ضئيلة جداً

يتناسب حجم الغاز الحيوي طرداً مع وحدة الإنتاج، فحجم الوحدات ذات الاستعمال المنزلي 12 – 25 م^3، أما وحدات إنتاج الغاز الحيوي لإنتاج الطاقة الكهربائية فتصل إلى 200 م^3، وهنالك وحدات تعتمد مبدأ حجز الجراثيم في مختلف مراحلها داخل الهاضم فتقوّض المواد العضوية في زمن قصير جداً، ربما خلال بضع ساعات بدلاً من عشرة أيام أو ثلاثين يوماً في الهواضم التقليدية.

نحسب كمية المادة الصلبة Total Solid TS ودرجة الحرارة المناسبة وقيمة pH السائل والمحتوى الكربوني والنتروجيني C/N، فمثلاً: يحتوي روث المواشي نحو 17% مادة صلبة، ودرجة الحرارة المناسبة 20 – 25 س°، ورقم الهدروجين 6.8 – 7.2، ونسبة C/N 25:1.

يمكن تحديد حجم الغاز الحيوي المحتمل إنتاجه في وحدة الإنتاج، كالآتي:

$$v_{BG} = C \cdot m_{Bm}$$

حيث:

C حجم الغاز الحيوي الناتج من الكتلة الحيوية الجافة، بحدود 0.25 – 0.4 م^3 /كغ.

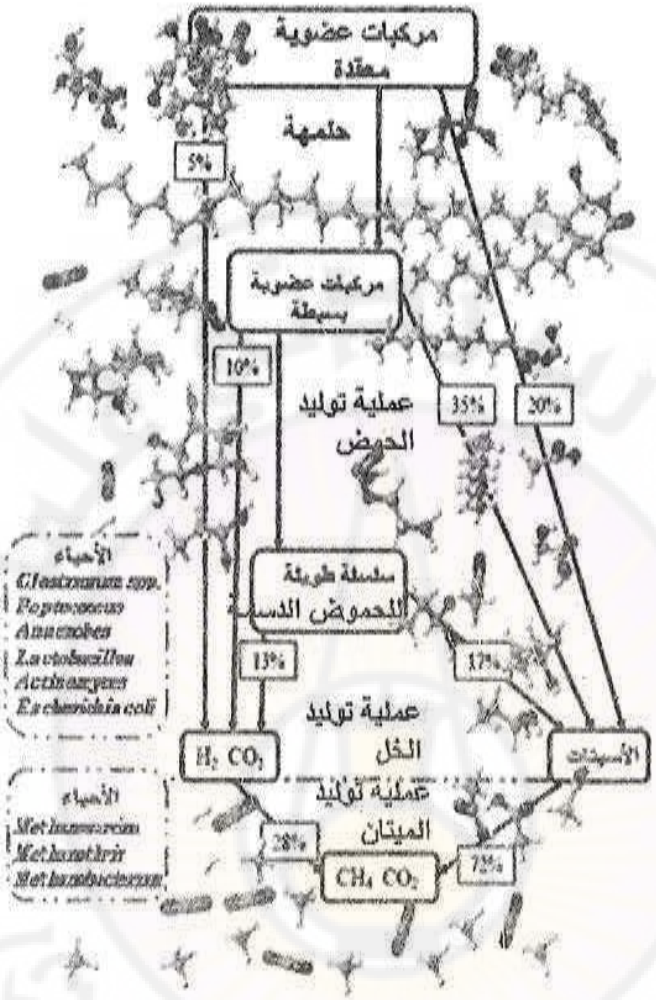
m_{Bm} وزن الكتلة الحيوية الجافة المستعملة في التخمير (كغ).

مثال تطبيقي:

يعادل إنتاج البقرة الواحدة من الروث نحو 12 كغ في اليوم، بمعدل 620.5 متراً مكعباً في السنة، أي بمعدل 1.7 متراً مكعباً في اليوم.

أما محتوى الطاقة في المتر المكعب الواحد من الغاز الحيوي فهو 6.5 كيلو واط ساعي؛ ويعادل 0.6 لتر من الوقود، ويصل ناتج البقرة الواحدة إلى نحو 10 كيلوواط في اليوم، فتكون سبع بقرات في مزرعة قادرة على إمداد منشأة صغيرة لإنتاج 10 م^3 من الغاز الحيوي يومياً، ويعادل 65 كيلوواط ساعي، وهذه تكفي احتياجات أيّ منزل مجهز تجهيزاً جيداً بكافة اللوازم الكهربائية وتزيد عليها، فاستهلاك المنزل من الكهرباء يعادل وسطياً نحو 3500 كيلوواط ساعي سنوياً.

وهناك أربعة مفاتيح للأطوار الحيوية والكيميائية للهضم اللاهوائي (www.waste.nl): هي الحلمهة Hydrolysis، وتوليد الحمض Acidogenesis، وتوليد الخل Acetogenesis، وتوليد الميتان Methanogenesis (الشكل 7-23).



الشكل 7-23 تسلسل عمليات إنتاج الغاز الحيوي.

تعد تقنية الغاز الحيوي ملائمة للتنمية الريفية، فهي تسهم في حل بعض المشكلات، وتعمل على تحسين الظروف البيئية وتخفيف تأثيرات التلوث الناجمة عن مختلف أنواع المخلفات الحيوانية والنباتية والبشرية، وينتج عنها:

- ✓ مادة عضوية متخمرة عالية الجودة، عديمة الرائحة، يمكن استعمالها كسماد عضوي جيد.
- ✓ غاز صالح للاستعمال كمصدر للطاقة يسمى الغاز الحيوي.

- ✓ بيئة ريفية نظيفة قليلة التلوث.
- ✓ وسيلة مهمة في معالجة مخلفات الصرف المنزلي لاهوائياً، ولاسيما في الريف والبيوت المعزولة في المدن.
- ✓ هي وحدات لمعالجة مخلفات الصرف المنزلي في مصادرها؛ مما يسمح بتخليص الأسرة من مخلفاتها وتدوير المياه واستعمالها بعد معالجتها.
- ✓ هي وحدات مسبقة الصنع، تتكون من مخمر ووحدة تصفية للماء الناتج، وتحتاج أسرة من عشرة أفراد لمخمر بحجم كلي يعادل نحو 1 $م^3$ ولوحدة تصفية حجمها 2 $م^3$ يجري هضم معظم المواد العضوية داخل المخمر.
- ✓ تحول عملية التخمير معظم المواد العضوية داخل المخمر إلى غاز، ويسمح حجم المخمر بتجميع المواد العضوية الباقية داخله حتى سنتين.
- ✓ يفرّغ المخمر مرة واحدة كل سنتين، وتفيد المواد الناتجة كسماد.
- ✓ يجري التخلص من بيوض الديدان كالأسكاريس وغيرها، بسبب احتجازها داخل المخمر فترات طويلة.
- ✓ تخضع المياه الخارجة من المخمر لمعالجة فيزيائية فتخرج المياه خالية من المواد العضوية وصافية تفيد في ري الأشجار ونباتات الزينة.
- ✓ رفع مستوى معيشة أهل الريف، وتخفيف معاناتهم وتحسين النظافة.

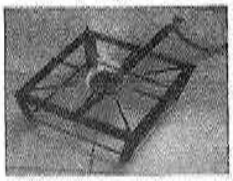
ويوجد في الأسواق نماذج للهواضم المنزلية مسبقة الصنع بكلفة مقبولة، أما الوحدات الصغيرة فيمكن تأمينها بكلفة أقل من الأسواق المحلية (الشكل 7-24).



الشكل 7-24 نماذج مختلفة للهواضم المنزلية مسبقة الصنع.

ففي الصين هنالك أكثر من 35 مليون هاضم لإنتاج الغاز الحيوي.

وتتكوّن محطة المعالجة من وحدات: المصافي، إزالة الرمال، المعالجة اللاهوائية، الأكسدة الهوائية، الترشيح الرملي، التعقيم، معالجة الحمأة، خزان الغاز.





أما مخرجات الهواضم فهي: الغاز الذي يعطي طاقة حرارية عالية ونظيفة ورخيصة وصديقة للبيئة، والسماد العضوي عالي الجودة شبه الخالي من العوامل الممرضة، وهو عديم الرائحة لا يجذب الحشرات، وتركيبه متجانس ومتوازن، يسهل امتصاصه من قبل النباتات (الشكل 7-25).

الشكل 7-25 مخرجات الهواضم من الغاز والسماد العضوي.

ويبين الجدولان 7-4 و 7-5 تقدير الكتلة الحيوية وإنتاج الطاقة في سورية.

الجدول 7-4 الكتلة الحيوية وما تُنتجه سنوياً من الطاقة والسماد العضوي لاهوائياً في سورية (الشياح وآخرون 2011).

المخلفات	الإنتاج الوسطي	المادة العضوية%	حجم الغاز الحيوي	الطاقة الكلية	كمية السماد
	mil.KgFM /year	*%FM*	*mil.m³N /year*	*GWh /year*	*mil.KgFM /year*
أبقار	7920.00	10.20	159.95	831.75	7128.00
أغنام	4185.00	46.70	486.64	2725.21	3766.50
ماعز	720.00	24.00	63.24	373.14	648.00
طيور (مداجن)	625.71	45.90	107.70	656.97	563.14
حطب القطن	2608.23	90.00	586.85	3227.68	2347.41
ماء الجفت	749.00	1.44	1.08	5.72	674.10
ثفل الزيتون	338.00	61.18	49.63	287.85	304.20
مياه صرف منزلي	357616.00	2.70	2510.46	13305.46	321854.40
مخلفات صلبة	4600.00	50.60	651.73	3584.50	4140.00
المجموع	379361.94		4617.29	24998.29	341425.75

الجدول 7-5 تقدير كمية غاز الميتان والوزن المكافئ من CO_2 من التفسخ العشوائي للكتلة الحيوية في سورية (الشياح وآخرون 2011).

المخلفات	الإنتاج الوسطي	المادة العضوية %	حجم غاز الميتان	الحجم المكافئ من CO_2	الوزن المكافئ من CO_2
	mil.Kg/ year	*%FM*	*mil. m³ /year*	*mil.m³ /year*	*mil.ton /year*
أبقار	7920.00	10.20	72.71	1526.82	2.81
أغنام	4185.00	46.70	117.26	2462.54	4.54
ماعز	720.00	24.00	15.55	326.59	0.60
طيور (مداجن)	625.71	45.90	25.85	542.81	1.00
حطب القطن	2608.23	90.00	0.00	0.00	0.00
ماء الجفت	749.00	1.44	0.49	10.19	0.02
تفل الزيتون	338.00	61.18	6.20	130.28	0.24
مياه صرف منزلي	357616.0	2.70	869.01	18249.14	33.61
مخلفات صلبة/ بلدية	4600.00	50.60	139.66	2932.78	5.40
مجموع	379361.9		1246.72	26181.15	48.23

ويفيد تطبيق إنتاج الغاز الحيوي في مجالات التنمية الريفية، وفق الآتي:

الإمداد بالطاقة واستعمالاتها

- العمل على تلبية احتياجات الفقراء.
- تغيير أنماط الاستعمال غير المناسب.
- الحد من التأثيرات البيئية الكبيرة للقطاع.

الطاقة والمياه

- توفير إمكانات ضخ وتوزيع.
- إمكانات توفير مياه شرب آمنة بتحلية المياه ومعالجتها.
- تلويث مصادر المياه وتحمضها.
- التأثيرات البيئية لمحطات المائية للكهرباء.

الطاقة والصحة

- إمكانات لتحسين وسائل الرعاية الصحية.
- التأثيرات السلبية باستعمال الوقود التقليدي في الصحة وتلوث الهواء.
- التأثيرات السلبية في الصحة والبيئة بسبب مخلفات الطاقة الذرية.

الطاقة والتنوع الحيوي

- التأثير البيئي لإزالة الغابات.
- إنتاج الطاقة الحيوية لإحياء الأرض الجرداء.
- تأثير محطات القوى المائية في الأحياء والنظم البيئية.

الطاقة والزراعة

- زيادة الإنتاجية من خلال مصادر الطاقة الحديثة.
- الطاقة الحيوية كمصدر جديد للوقود.
- الطاقة لمشروعات التصنيع الزراعي.

غير أن التجربة السورية في مجال الغاز الحيوي تواجه مشكلات كثيرة؛ نظراً إلى عدم وجود استراتيجية تضمن استعمال طاقة الكتلة الحيوية كمصدر للطاقة على مستوى البلاد، وضعف أساليب الدعم والتوعية لدفع عملية شاملة في التطبيق، ولاسيما في المناطق الريفية، وقلة الخبرة وعدم تأمين الكوادر المؤهلة لاختراق هذا الميدان؛ إضافة إلى الكلفة المرتفعة للهواضم المنزلية مقارنةً بدخل سكان الأرياف عموماً.

750 الأسيتون- البوتانول Acetone – Butanol

الأسيتون هو الناتج الثانوي لصناعة الإيزوبروبانول أو الفينول، وينتج كذلك بأكسدة البروبان، ويجري تركيبه كيميائياً حتى الآن، وهناك العديد من الجراثيم المنتجة كميات قليلة من الأسيتون، وتتصف بالإنتاج العالي للأسيتون والبوتانول جراثيم النوع *Clostridium acetobutylicum* المخمرة للعديد من المواد النشوية، و *Cl. saccharoacetobutylicum*، وتُنتج هذه الجراثيم اللاهوائية الصارمة حموض البوتريك والستريك أولاً، ثم تحوله بعد ذلك إلى الأسيتون والبوتانول، تبلغ

كمية المذيبات المتعادلة في حدود 2% من وزن السائل المتخمر؛ أي نحو 30% من السكريات، وتتعلق النسبة الفعلية بتركيب وسط الاستزراع، ويؤدي إنتاج البوتانول إلى تأثير سام في الخلايا الجرثومية، ويبلغ أقصى تركيز أمكن الحصول عليه تجارياً 13.5/ل، ولهذه النسبة تأثير سلبي في سرعة التخمر.

وتستعمل أنواع من جراثيم *Clostridium* بعض المركبات السكرية والسكريات والحموض العضوية الهدروكسيلية Hydroxy لاهوائياً لإنتاج الأسيتون والبوتانول، وكذلك حمض البوتيريك وحمض الخل والإيتانول.

الأسيتون سائل عديم اللون، قابل للاشتعال، صيغته CH_3COCH_3، ويسمى البروبانون، أو ثنائي متيل كيتون.

تمكن الكيميائي حاييم وايزمان في عام 1912 من عزل جراثيم لاهوائية مخمرة للنشاء قادرة على إنتاج كميات ملموسة من الأسيتون والبوتانول [Weizmann 1912]، تسمى *Clostridium acetobutylicum*، وطلب منه آرثر بلفور تصنيع كميات كبيرة من الأسيتون لتركيب مادة الكورديت لصنع القنابل كمتفرعات، في الحرب العالمية الأولى وتميزت بتأثير في المعارك، فكافأته بريطانيا التي دحرت الأعداء بإصدار وعد بلفور في 2 تشرين الثاني عام 1917 لإنشاء وطن لليهود في فلسطين بناء على طلبه.

البوتانول سائل عديم اللون، له الصيغة $C_4H_{10}O$ ويمكن استعماله كوقود للنقل، وتبدو غالبية محركات الاحتراق الداخلي قابلة لاستعمال البوتانول بلا مصاعب، وهو ما دفع لبحث استعماله كوقود بديل (Nielsen *et al.*, 2009)، ويجري تصنيعه من النفط بكميات كبيرة في العالم.

وهو غول قابل للامتزاج، وقابل للاشتعال، واسع الاستعمالات الصناعية [Dürre 2008]، ويتصف بالآتي:

- يحتوي البوتانول 25% من الطاقة أكثر مما في الإيثانول [Dürre 2007].
- البوتانول أكثر أماناً؛ لأنه أقل تطايراً من الإيثانول والغازولين.
- البوتانول أقل فعالية للصدأ من الإيثانول، ولا يتطلب أي تغيير للبنى الحالية في الخزانات والأنابيب والمضخات والمحطات [Dürre 2007].
- قابلية المزج المنخفضة للبوتانول مع الماء يجعله مزيجاً رائعاً بتراكيز عالية في الغازولين مما في الوقود الحيوي الحالي، ويُستعمل الإيثانول كمضاف أقل من 85% حتماً في المحركات الحالية.
- يمكن أن يمنع البوتانول الحاجة لإضافة تعديلات على المحركات عند استعمال الهدروجين كبديل للغازولين.
- خلال احتراق البوتانول، لا يوجد تحرر للكبريت وأكاسيد النتروجين التي توجد في الوقود الأحفوري الحالي، ولهذا فوائد بيئية.

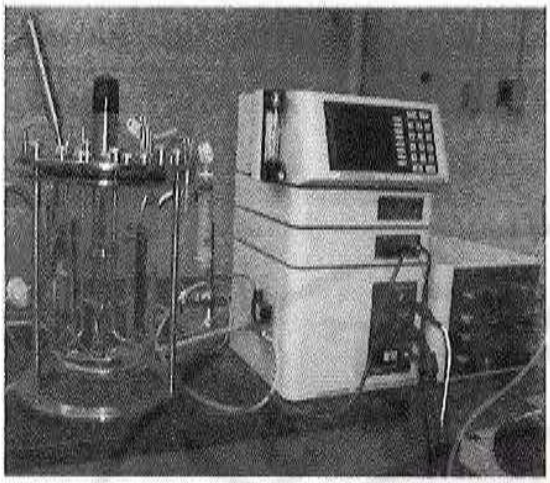
مع ذلك، فالبوتانول لا يُستعمل على نطاق واسع بسبب الكلفة مقارنة بالوقود الآخر، والتخمر المنخفض ومستوى الحصيلة المنخفض نسبياً، والمشكلات الناتجة عن تثبيط المنتج النهائي وإصابات العاثيات (Yu *et al.*, 2011).

البوتانول الحيوي هو غول ينتمي إلى فرع الأغوال العليا، كما الإيثانول الحيوي (British Petroleum and DuPont)، فإن البوتانول الحيوي يُنتج بوساطة التخمر ويستعمل المصادر نفسها، والمحطة المنتجة للإيثانول يمكنها إنتاج البوتانول، ويمكن مزج البوتانول مع الغازولين بسهولة أكبر من الإيثانول الحيوي ويمكن مزجه بنسبة كبيرة واستعماله في المحركات الحالية (Femando 2006).

تفيد جراثيم *Clostridium* في تخمير الأسيتون والبوتانول والإيثانول Acetone-Butanol-Ethanol ABE التقليدي، إذ يُستخلص بنسبة 3 - 6 - 1 من السكريات، أما النوع الأكثر شيوعاً لهذه الجراثيم فهو *Cl. acetobutylicum* (Yu *et al*, 2011)، ويُستعمل في إنتاج البوتانول أيضاً النوع *Cl. beijerinkii* الذي يتصف بنتائج جيدة (الشكل 7-24)

يمكن تقسيم عملية التخمر كالآتي (Stanbury *et al.*, 1995):

- تركيب الوسط المستعمل خلال تنمية اللقح وكذلك الموجود في المفاعل الحيوي.
- تعقيم الوسط والمفاعل الحيوي والأجهزة الإضافية.



الشكل 7-24 المفاعل من النمط BIOFLO 110 (7 ل).

- إنتاج مزرعة فعّالة ونقية في كمية كافية لتلقيح وعاء الإنتاج.
- نمو الكائن الحي في المفاعل الحيوي في الظروف الفضلى من أجل تكوين المنتَج.
- استخلاص المنتَج وتنقيته.
- التخلص من المخلفات الناتجة في العملية.

وهنالك مجموعة من الجراثيم المنتجة للبوتانول بأسلوب التخمير ذي الدفعة الواحدة، مثل: *C. saccharoperbutylacetonium* و *C. acetobutylicum* و *C. beijerinkii* و *C. aurantibutyricum*، وهي قادرة على استقلاب مجموعة هائلة من المركبات، كالسكريات الخماسية والسداسية والأحادية والثنائية، وعديدات السكر [Flickinger and Drew, 1999]، ويمر ذلك في طورين فيزيولوجيين: الطور الأول من أجل التحميض، أما الآخر فهو طور تكوين المذيب، ولذلك فالبوتانول المنتَج بالتخمر يظهر كمادة واعدة للوقود البديل، وهو في الوقت نفسه يخفض انبعاثات غازات الاحترار [Dürre, 2008, Shapovalov and Ashkinazi 2008].

760 محاصيل الطاقة Energy crops

هناك مجموعة من أنواع النباتات التي يمكن تحويل منتجاتها إلى وقود يُستعمل كمصدر للطاقة، وفي مقدمتها قصب السكر والذرة السكرية والبطاطا الحلوة (الشكل 7-25)، والنباتات التي تتميز بوجود الزيوت (الشكل 7-26)، ويمكن الاستفادة من النباتات الأخرى ولكن بمردود ضعيف، ولا يغيب عن الذهن إمكان استعمال النباتات نفسها كوقود، ففي كثير من الأرياف يعتمد الأهالي جزئياً أو كلياً على الأخشاب والأغصان كمصادر للطاقة لتسخين المياه أو الطبخ أو التدفئة؛ وبالتالي فالتركيب الضوئي مصدر الطاقة الأساسي للإنسان خلال عصور طويلة.



قصب السكر *Saccharum officenarum*
الفصيلة النجيلية Poaceae



الذرة البيضاء *Sorghum bicolor*
Moench var.saccharafum
الفصيلة النجيلية Poaceae

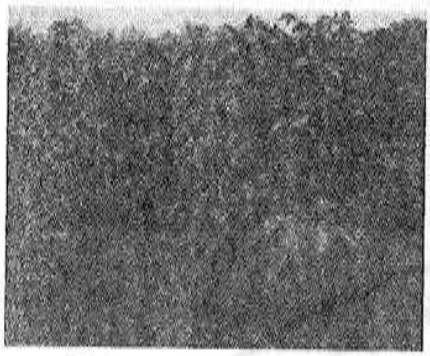


المانيهوت Manihot esculenta
الفصيلة الأفوربية Euphorbiaceae



مزارع البطاطا *Solanum tuberosum*
الفصيلة الباذنجانية Solanaceae

الشكل 7-25 نباتات المحاصيل السكرية.



Ricinus communis الخروع

Euphorbiaceae الفصيلة الأفوربية



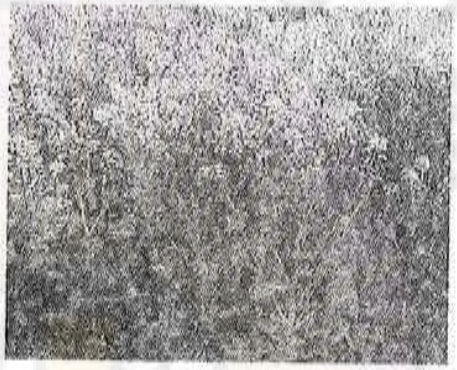
Jatropha curcas الجاتروفا

Euphorbiaceae الفصيلة الأفوربية



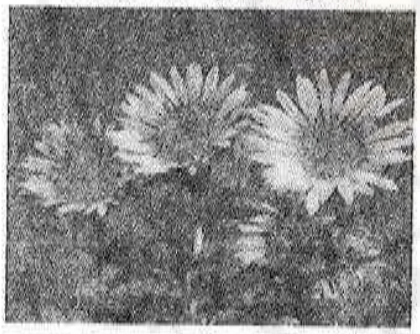
النباتات المائية: السعد *Juncus*

Juncaceae الفصيلة الأسلية



الخردل *Brassica napus*

Brassicaceae الفصيلة الملفوفية



دوار الشمس *Helianthus annuus*

Asteraceae الفصيلة النجمية



البطم *Pistacia atlantica*

Anacardiaceae الفصيلة البطمية

الشكل 7-26 نباتات المحاصيل الزيتية.

يوجد قليل جداً من الهدروجين الغازي H_2 في الطبيعة، ولكن الهدروجين هو العنصر الأكثر وفرة في الكون (أكثر من 75 – 90% من مجمل الذرات)، وهو أيضاً موجود في أي مكان على الأرض، ويوجد على عمق 20 كم تحت مستوى قشرة الأرض، وقد تبين وجود جراثيم تنمو بقوة في بيئة لا تحتوي الضوء أو الأكسجين [Freund *et al.*, 2002]، وإن كان موجوداً بكثرة في المركبات، ولاسيما الماء، وبالفعل يتميز غاز الهدروجين بدور محوري في تأمين الطاقة الكونية خلال اندماج الهدروجين الممتاز، كالشمس.

إن الطاقة الهائلة الناتجة عن الهدروجين تجعله مصدراً للطاقة المتجددة فعالاً ومقبولاً بالكلفة في المستقبل، وهو يمتلك أقل تأثير بيئي، وله مزايا عديدة مقارنة بمزايا أنواع الوقود الموجودة والبديلة، فهو مصدر دائم ومتجدد ويحتوي أكبر كمية من الطاقة في وحدة الوزن مقارنة بالمحروقات الأخرى، لكن كمية الحرارة في الحجم نفسه تعادل أقل من ثلثها منها في البنزين أو المازوت، وتحتاج عملية استخلاصه إلى مصدر أولي للطاقة؛ وبالتالي فالهدروجين وسيط للطاقة، وحين يحترق يكون الناتج بخار الماء فقط!... أي يحترق ويعطي طاقته ليعود ثانية إلى حالته الأولى أي الماء، فلا يوجد أي تلوث.

يتميز الهدروجين بسرعة انتشار لهبه عالي الحرارة؛ مما يقلل من مخاطر الحرائق، ويمكن استعماله في عمليات اللحام، لا لون للهبه، وليس له رائحة، ولذلك فاستعماله يتطلب إضافة ألوان من أجل السلامة والأمان، ويمكن إنتاجه بالتحلل الحراري والعمليات الكيميائية الحرارية، ويمكن أن ينتج الهدروجين الحيوي بفعل الأحياء الدقيقة الآتية:

- **الجراثيم**

تنتشر جراثيم النوع *Rhodoferax ferrireducens* تحت الأرض في الرواسب الخالية من الهواء، وهي غنية بالحديد، إذ تعتمد على الحديد في التنفس بدلاً من

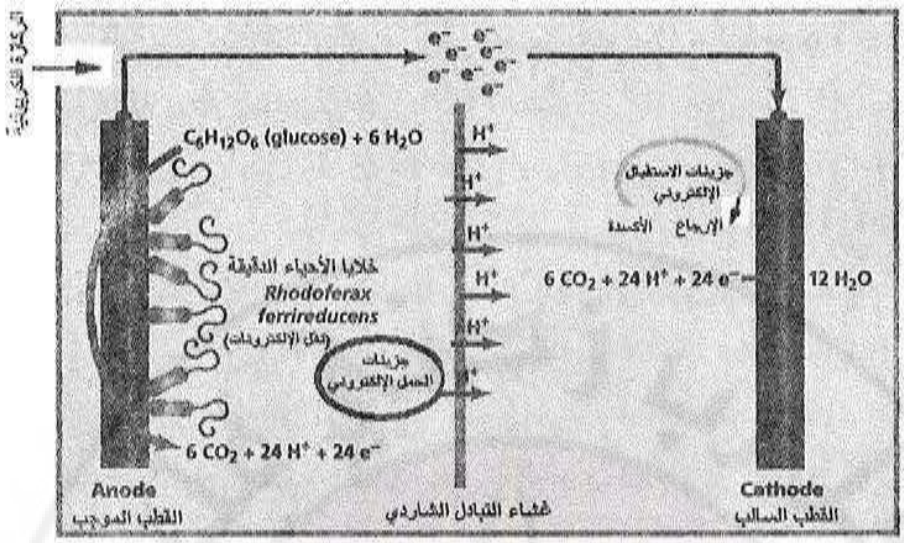
الأكسجين على عكس غالبية الأحياء، وهي عصيات قصيرة، سالبة بصبغة غرام، متحركة بوساطة سوط وحيد، لا تكوّن الأبواغ، تنمو في رقم هدروجيني pH بين 6.7 و 7.1، ودرجة حرارة 4 – 30 س°، ودرجة الحرارة الفضلى 25 س°، وتستعمل السكر أو أياً من المركبات السكرية للحصول على ما تحتاجه من الطاقة، غير أنها تحوّلُ الفائض عن حاجتها إلى الإلكترونات التي تنتقل إلى ذرات الحديد المنتشرة في طبقات الرواسب الحديدية التي تتخذها موئلاً لها، وكذلك إلى ذرات معدنية أخرى يمكن أن تكون موجودة، ويكون مردود إنتاج الطاقة عالياً، على عكس ما يحصل بفعل الأحياء الدقيقة التي تنتج نحو 10% أو أقل من الطاقة الكامنة في المادة المستعملة؛ وبالتالي فالناتج مكلف جداً.

عندما تهضم الجراثيم الغلوكوز وتحوله إلى ثنائي أكسيد الكربون وإلكترونات أي شحنات كهربائية سالبة، يجذب القطب الكهربائي الموجب هذه الشحنات، ثم تنتقل عبر دائرة خارجية إلى القطب السالب، بالفعل أصبح لدينا دائرة كهربائية مغلقة، وبالتالي أمكن توليد طاقة كهربائية من الجراثيم الحديدية التي تستعمله في التنفس وتضم السكر.

وهكذا، فالجراثيم وسيلة لإنتاج الكهرباء باستعمال السكر، كالغلوكوز، والفركتوز والسكروز (في قصب السكر والشوندر السكري)، إضافة إلى السليلوز.

تتكوّن خلية الوقود التي تتضمن الجراثيم من إناء صغير مقسم إلى جزأين يفصل بينهما غشاء، يحتوي الجزء الأول قطباً كهربائياً من الغرافيت، وتوضع الجراثيم في محلول سكري من الغلوكوز في الجزء الآخر (الشكل 7-27).

تفيد الطاقة الناتجة بفعل الجراثيم لإمداد الميكروفونات تحت المائية وأجهزة رصد السفن والغواصات في قاع المحيط، ومن المتوقع توسع استعمالاتها، ويمكن إنتاج الهدروجين المتخمر ضوئياً بفعل الجراثيم ذات التركيب الضوئي (الجدول 7-6).



الشكل 7-27 خلية الوقود باستعمال الأحياء الدقيقة [Berger, 2014].

الجدول 7-6 الجراثيم المنتِجة للهدروجين (Sasikala *et al.*, 1989).

النوع	الركازة والتفاعل	كفاءة التحويل%
Rhodobacter capsulatus	الأسيتات $C_2H_4O_2 + 2H_2O = 2CO_2 + 4H_2$	100-57
Rhodobacter capsulatus	البوتيرات $C_4H_8O_2 + 6H_2O = 4CO_2 + 10H_2$	80-23
Rhodopseudomonas sp. 7	الإيتانول $C_2H_5O + 3H_2O = 2CO_2 + 6H_2$	45
Rhodobacter sphaeroides	الغلوكوز $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O = 6CO_2 + 12H_2$	99
Rhodomicrobium vannielii	اللاكتات $C_3H_6O_3 + 3H_2O = 3CO_2 + 6H_2$	100-78
Rhodobacter sphaeroides	المالات $C_4H_6O_5 + 3H_2O = 4CO_2 + 6H_2$	100-57
Rhodopseudomonas sp. 7	البروبانول $C_3H_8O + 5H_2O = 3CO_2 + 9H_2$	36
Rhodopseudomonas palustris	البيروفات $C_3H_4O_3 + 3H_2O = 3CO_2 + 5H_2$	52
Rhodobacter capsulatus	السكسينات $C_4H_6O_4 + 4H_2O = 4CO_2 + 7H_2$	72

من المدهش النطاق الواسع لِطَيف المواد التي تستعملها الأحياء الدقيقة، والتنوع في مسالك استقلابها، إلى جانب الأنواع غيرية التغذية التي تحتاج من أجل نموها مركبات عضوية جاهزة، هناك ذاتيات التغذية التي تستهلك الماء وغاز ثنائي أكسيد الكربون والضوء – ذاتية التغذية الضوئية، أو التي تستعمل المواد الكيميائية اللاعضوية كالهدروجين والكبريت ومركباتها المرجعة، مثل: السُلفيدات، وكذلك النشادر والنتريت وأحادي أكسيد الكربون – ذاتية التغذية الكيميائية.

تبدو ظروف نمو ذاتيات التغذية الكيميائية محدودة جداً في البيئة، ولذلك فإن كتلتها لن تتميز بدور مهم اليوم ولا مستقبلاً في توازن المواد الجارية في الغلاف الحيوي Biosphere.

ولحُسْن الحظ، يمكن تنميتها باستعمال الطرائق الحديثة، إذ إن جميع هذه الأحياء الدقيقة تؤدي إلى تجمّع نواتج الأكسدة في الوسط المحيط عند استعمال المواد اللاعضوية، فمثلاً: تحوّل الجراثيم المؤكسدة للحديد، في مثل هذه الحال، أيون الحديد ثنائي التكافؤ إلى أيون الحديد ثلاثي التكافؤ التي لا تفيد في تغذيتها، ولكن ليس من الصعب إرجاع الصيغة الأصلية من جديد، والقيام بعملية معاكسة.

ويمكن الاستفادة من هذه الميزة باستعمال المفاعل الحيوي ذي الوسط الغذائي الحاوي أيونات الحديد، إذ تُوضع مزرعة للجراثيم ذاتية التغذية الكيميائية، ويوصل إلى هناك إلكترود موصول بمصدر من التيار الكهربائي المستمر.

في زمن التفاعل على سطح القطب السالب يحدث إرجاع للحديد، وفي الخلية الجرثومية – أكسدته، ويُشارك فيها الأكسجين المتكون من الماء على القطب الموجب، ويتكون الماء من جديد من الأكسجين والهدروجين.

تبدو العملية معقدة جداً، ولكن أمكن التوصل إلى حلول تقنية مأمونة من أجل التوفيق مع الأتمتة لسرعة تفاعل التركيب المباشر والعكسي، وقد أُعدت في روسيا نماذج مختلفة من المفاعلات للحصول على جراثيم *Thiobacillus ferooxidans*.

من المتوقع تطوير هذه العمليات بهدف إنتاج الكتلة الحيوية للجراثيم المؤكسدة للحديد الحاوية نحو 60% بروتين، و 15% سكريات، و 10% وشحوم، و8% حموض نووية، وتأمين مورد إضافي للأعلاف والغذاء، إذ يزداد تركيزها حتى 10^7 – 10^8 خلية في المليلتر من المحلول المستعمل لسقاية الصخور، وعندئذ يكون استعمالها واسعاً ضمن مجال علم الفلزات الحيوي، ولاسيما في أكسدة (تعدين) الصخور الكبريتية الفقيرة بفعل الجراثيم، وهذه الطريقة مطبقة في بلدان عديدة.

صحيح أن الجراثيم لا تمتلك "تغذية" كافية في الصخور الفقيرة، وظروف نشاطها الحيوي في ركام المخلفات أو في الصخور تحت الأرض (درجة الحرارة، تركيب وسط التنمية) لا يكون مناسباً تماماً، ولذلك فالعملية الطبيعية تجري ببطء شديد وقد يستغرق ذلك 10 سنوات وأكثر.

أما تأمين الظروف الفيزيائية والكيميائية المناسبة للإنتاج الصناعي فيجري اليوم تقنياً بسهولة، وفقاً للطريقة التي اقترحها كوفروف ودنِسوف (Kovrov and Denisov)، ويرتبط نجاح ذلك بتركيز الجراثيم ضمن المحلول، والسلفيتيدات المؤكسدة، فعند استعمال السلفيتيد المعقد في خامات الأرسينوبيرت، أمكن اختصار مدة العملية بالأكسدة الجرثومية حتى 24 ساعة.

لا تزال الكتلة الحيوية المنتَجة بفعل الجراثيم المؤكسدة للحديد دون المطلوب، ولكن يمكن زيادتها من حيث المبدأ، ويكفي لذلك وجود أملاح معدنية بسيطة ورخيصة [Kovrov and Denisov 1988].

◘ الطحالب

في الواقع، لا يُنتج التركيب الضوئي الشائع الهدروجين، ولكن هناك عمليات تركيب ضوئي تؤدي إلى إنتاجه، فالطحالب النامية في المياه تمتص الضوء وتطلق الهدروجين، غير أن كفاءة هذه العملية 1 – 2% فقط في الجو الطبيعي، وإن كانت تبلغ في المختبر نحو 9%، وكذلك يتطلب إنتاج كميات كبيرة من الهدروجين مساحات واسعة جداً مزروعة بالطحالب، وهي في الوقت ذاته تعتمد على الطاقة

الشمسية وغير ملوثة. يُنتج الهدروجيناز Hydrogenase غاز الهدروجين في غياب الأكسجين [Melis *et al.*, 2000]، غير أنه لا يمكنه الظهور تحت هذه الظروف عندما يظهر التركيب الضوئي ويكون الأكسجين موجوداً.

يبدو الأكسجين المثبط الناتج عن التركيب الضوئي في الطحالب مفتاحَ إنتاج المصدر الدائم والمتجدد لغاز الهدروجين [Melis and Happe, 2001]، وتسبب إزالة الكبريت من وسط التنمية انخفاضاً قابلاً للعكس في معدل التركيب الضوئي الأكسجيني، ولا تؤثر في معدل التنفس الجاري في الميتوكوندريا [Wyckoff *et al.*, 1998].

وعموماً، هناك أربعة عوامل متأثرة يجب أخذها في التفكير الجاد من أجل إنتاج الهدروجين [Melis and Happe, 2001]:

1) يحدث التركيب الضوئي الأكسجيني؛ لأن الإلكترونات تنتقل خلال سلسلة النقل الإلكتروني وفي آخر الأمر بلوغ تلقيم Fe hydrogenase.
2) يكون هدم المركبات الداخلية كالنشاء والبروتين والشحوم أساسياً لعملية التنفس في الميتوكوندريا لم ينتجه من مركبات مناسبة.
3) يعمل التنفس في الميتوكوندريا على استهلاك جميع الأكسجين المتولد بوساطة التركيب الضوئي الباقي، فيصون العملية الحيوية اللاهوائية التي تسمح بتحرك إنزيمات Fe hydrogenase في المزرعة وإنتاج الهدروجين.
4) يكون نقل الإلكترون بوساطة مسلك الهدروجيناز حاسماً لضمان تحرر H_2، عندما تضبط هذه العوامل تسمح باستمرار أساس مستوى التركيب الضوئي؛ وبالتالي نقل الإلكترون التنفسي في ظروف متباينة.

هنالك طوران لإنتاج الهدروجين الضوئي Photohydrogen: [1] طور التركيب الضوئي، [2] وطور الحرمان من الكبريت لصون إنزيمات Fe hydrogenase خلال العملية، وفي النهاية تجاوز حدود إنتاج غاز الهدروجين بسبب ثابت الضوء، فعندما تبلغ غزارة الأحياء الدقيقة 3 – 6 ملايين خلية في المليلتر يجب تطبيق

طور حرمانها من الكبريت، ويمكن ذلك بطريقتين، يعمل كلاهما على تعديل التركيب الضوئي، بتنظيم دقيق لاستعمال الكبريت في وسط النمو حيث يُستهلك خلال التركيب الضوئي، أو باستبدال وسط النمو بآخر يعوزه الكبريت في المواد المستعملة، وقد أمكن تطبيق ذلك بنجاح فانخفضت الفعالية المطلقة للتركيب الضوئي إلى معدل التنفس في النوع *Chlamydomonas reinhardtii* بعد يوم واحد، ويبقى الثابت عكوساً، فالأحياء تستهلك جميع الأكسجين المنحل وتصبح لاهوائية في الضوء.

تؤدي إزالة الكبريت من وسط النمو إلى [Melis and Happe, 2001]:

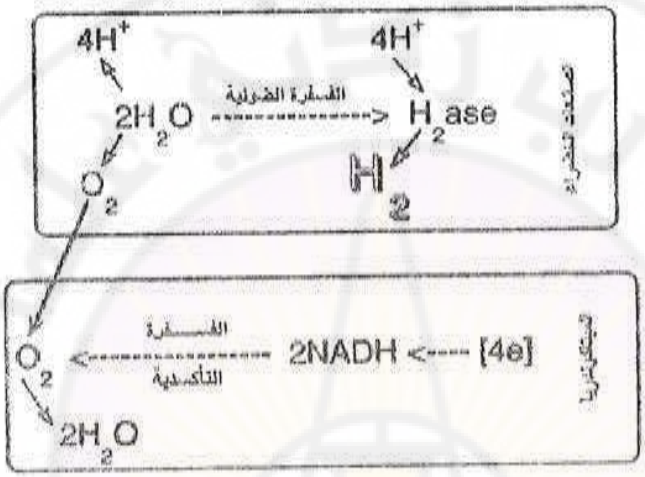
1) توجيه الاستقلاب نحو توقف التركيب الضوئي الأكسجيني اصطفائياً في النظام الضوئي الثاني مع تأثير قابل للعكس، وهذه الإلكترونات تُمنح لإنزيمات Fe hydrogenase التي تضم الإلكترونات مع البروتونات لتكوين غاز H_2.
2) تحفيز الشكل البديل للتركيب الضوئي؛ إذ تتحوّل الخلايا إلى الاستقلاب التخمري اللاهوائي خلال دقائق نتيجة الحرمان من الكبريت، ويجري هذا الأمر الفريد لأن التخمر هو تقويض Degradation يظهر عادة في الظلام، وفي ظروف الحرمان من الكبريت يُنتج غاز الهدروجين في الضوء فقط وليس في الظلام، ويتحرر خلال الجدار الخلوي للطحالب.

عموماً، يحدث التخمر باستهلاك كمية معنوية من النشاء والبروتين، وهذا ما يبقي إنتاج غاز الهدروجين حتى يعود الكبريت ثانية بسبب ظهور التنفس في الميتوكوندريا، ولو في أسلوب مختلف عما هو معتاد، فالتنفس في الميتوكوندريا يستهلك جميع الأكسجين الناتج عن عملية التركيب الضوئي الباقي، قبل أن يغفي Fe Hydrogenase الذي يسمح بإنتاج غاز الهدروجين - الشكل المتجدد والمستمر.

ويمكن تمثيل ذلك بالشكل 7-28، إذ تجري عملية الفسفرة الضوئية في الصانعات الخضراء وعملية الفسفرة التأكسدية.

ومن أهم الطحالب المنتجة للهدروجين:

Anabaena variabilis, A. cylindrica, A. flose-aquae, A. azollae, Nostoc muscorum, N. commune, Oscillatoria brevis, O. limosa, Calotrhix scopolorum, Synechococcus, Microcystis, Gloebacter, Aphanocapsa montana,Microcoleus chthonoplasts



الشكل 7-28 عملية إنتاج غاز الهدروجين.

يدخل الهدروجين في العمليات الصناعية الكيميائية، وغيرها، وفي المطابخ وأسطوانات الغاز، وفي تسخين المياه وتدفئة المنازل، والتخلي عن المداخن!... ويفيد في وسائط النقل والطائرات، وفي صناعة الأمونيا المهمة في صناعة الأسمدة الكيميائية، ويمكن استعماله لتوليد الكهرباء في توربينات المحطات الكهربائية وفي خلايا الوقود، حتى يكاد ليس في مقدورنا تخيل أن الحياة تستمر من دون طاقة غير ناضبة.

Damascus University

أسئلة للمناقشة



- ما الديزل الحيوي؟.
- أوضح مفهوم خلية الوقود الحيوي.
- أين يمكن استعمال الغاز الحيوي محل الوقود الأحفوري في سورية؟.
- لماذا يعد الغاز الحيوي مصدراً للطاقة المتجددة؟.
- ما فائدة إزالة الكبريت من الوسط المغذي، وأي نمط من الوقود ينتج؟.
- عدّد أجيال إنتاج الوقود الحيوي، وأي منها أفضل برأيك؟.
- لماذا لا ترغب في وجود الطحالب نامية في الهاضم؟.

جامعة دمشق Damascus University

المراجع References

- **الشياح، عبد الرحمن – العفيف، رأفت – علي، يونس – علي، نادر، جحا، زياد (2011).** الندوة العلمية: طاقة الكتلة الحيوية في سورية: الواقع والآفاق المستقبلية (مدن نظيفة، ريف جميل، مياه عذبة)، جامعة دمشق، كلية الهندسة الميكانيكية والكهربائية 22-23 /10/ 2011.
- **علي نظام، عدنان (2011).** الطحالب الدقيقة معامل معالجة المخلفات ومصدر الطاقة في المستقبل، الندوة العلمية: طاقة الكتلة الحيوية في سورية: الواقع والآفاق المستقبلية (مدن نظيفة، ريف جميل، مياه عذبة)، جامعة دمشق، كلية الهندسة الميكانيكية والكهربائية 22-23 /10/ 2011.
- **قرضاب، محمد – خويص، توفيق (2010).** أهمية استعمال تقنية الغاز الحيوي في تنمية الريف السوري، 11 شباط، 2010، على الموقع:

www.kawngroup.com

- **Almeida J., Modig T., Petersson T., Hahn-Hägerdal B., Liden G., Gorwa-Grauslund M., (2007).** Increased tolerance and conversion of inhibitors in lignocellulosic hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*, J. Chem. Technol. Biotechnol. 82, pp. 340–349.
- **AutoblogGreen:** Got some biodiesel you can't use? Convert it to gasoline with Biolene. AutoblogGreen. Retrieved December 13, 2008.
- **Balat M., Cahide O., (2008).** Progress in bioethanol processing, Prog. Energ. Combust. 34, pp. 551–573.

- Banerjee A., Sharma R., Chisti Y., Banerjee U., (2002). *Botryococcus Braunii*: A Renewable Source of Hydrocarbons and Other Chemicals. Crit. Rev. Biotechnol. 22, 245-279.
- Becker E., (1994). Microalgae: Biotechnology and Microbiology. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK.
- Ben-Amotz A., Tornabene T., (1985). Chemical profile of selected species of macroalgae with emphasis on lipids. J. Phycol. 21: 72-81.
- Benemann J., (2008). Biofixation of CO_2 an GHG abatement with microalgae. Report submitted to the US DOE.
- Berger A., (2014). Hydrogen gas from pond scum: Using green algae to create sustainable energy.
- British Petroleum and DuPont: Biobutanol factsheet http://www.bp.com/liveassets/bpinternet/globalbp/STAGING/globalassets/downloads/B/Biobiobutanolfactsheetjun06.pdf
- Chisti Y., (2007). "Biodiesel from Microalgae" Biotechnology Advances 25: pp. 294-306.
- Chisti Y., (2008). Biodiesel from microalgae beats bioethanol. Trends in Biotechnology, Vol.26, Issue 3, P. 126-131.
- Damaso M., Almeida M., Kurtenbach E., Martins O., Pereira Jr., Andrade C., Albano R., (2003). Optimized expression of a thermostable xylanase from *Thermomyces lanuginosus* in Pichia pastoris, Appl. Envi. Microbiol. 69, pp. 6064–6072.
- Dayananda C., Sarada R., Bhattacharya S., Ravishankar G., (2005). Effect of media and culture conditions on growth and hydrocarbon production by *Botryococcus braunii*. Pro. Biochem. 40: 3125-3131.
- Demirbas A., Demirbas I., (2007). Importance of Rural Bioenergy for Developing Countries. Energy Convers. Manage. 48, 2386-2398.
- Dürre P., (2007). Biobutanol: An attractive biofuel. Biotechnology journal, 2(12). 1525-1534.
- Dürre P. (2008). Fermentative butanol production. Annals of the New York Akademy of Sciences, 1125 (1), 353-362.
- Farrell A. E. *et al.*, (2006). Ethanol can Contribute to Energy and Environmental Goals. Science 311:506-508.

- **Feinberg D., (1984).** Fuels options from microalgae with representative chemical compositions. Report, Solar Energy Research Institute, Colorado, US. pp. 10-13.
- **Femando R., Votorantim V., (2006).** Brazil – presentation at IB World Congress, Toronto.
- **Ferrell J., Sarisky – Reed V., (2010).** National Algal Biofuels Technology Roadmap, College Park, Maryland, 12: 9 – 10, 2008, US Energy, energy Efficiency and Renewable Energy.
- **Fitzsimmons K., Lin G., (2014).** Growing *Chlorella* for Algae – Oil Biofuels and Aquaculture Feeds. Aquaculture sustainability conference. Yantai, China.
- **Flickinger M., Drew S., (1999).** Encyclopedia of bioprocess technology – Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation. Vol.1-5, John Wiley & Sons.
- **Freund F., Dickinson J., Cash M., (2002).** Hydrogen in rocks: an energy source for deep microbial communities. Astrobiology 2(1): 83-92.
- **Gámez S., González-Cabriales J., Ramírez J., Garrote G. (2006).** Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid, J. Food Eng. 74 (2006), pp. 78–88.
- **Gouveia L., Oliveira A., (2009).** Microalgae as raw material for biofuels production. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 36: 269-274.
- **greenfuelonline.com.** Green Fuel Online. Retrieved December 13, 2008.
- **Hammerschlag R., (2006).** Ethanol's Energy Return on Investment: A Survey of the Literature 1999-Present. Environ. Sci. Technol. 40:1744-1750.
- **Hartman E., (2008).** A Promising Oil Alternative: Algae Energy. Washington Post, January 3.
- **Hendriks A., Zeeman G., (2009).** Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass, Biores. Technol. 100, pp. 10–18.
- **Huntley M., Redalje D., (2007).** CO_2 mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal. Mitigat. Adapt. Strat. Global Change. 12: 573-608.
- **Kim S., Dale Bruce E., (2005).** Life cycle assessment of various cropping systems utilized for producing biofuels:

Bioethanol and biodiesel. Biomass and Bioenergy, Vol. 29, Issue 6, December, pp.426-439.

- **Kong Q., Yu F., Chen P., Ruan R., (2007).** High Oil Content Microalgae Selection for Biodiesel Production. Proceedings of 2007 ASABE Annual International Meeting, Minneapolis, Minnesota, USA, June 17-20.
- **Kovrov B., Denisov G., (1988).** Science in USSR, N5, 1988, p 14-15.
- **Lloyed D., Thomas K., Hayes A., Hill B., Hales B., Edwards C., (1998).** Micro-ecology of peat: Minimally invasive analysis using confocal laser scanning microscopy, membrane inlet mass spectrometry and PCR amplification of methanogen – specific gene sequences. *FEMS Microbiol. Ecol.* 25: 179 – 188.
- **Mabee W., Saddler J., (2010).** Bioethanol from lignocellulosics: Status and perspectives in Canada. Bioresource Technology, Vol.101, 13, July, pp.4806-4813. Special Issue on Lignocellulosic Bioethanol: Current Status and Perspectives.
- **Melis A., Liping Z., Forestier M., Ghirardi M., Seibert M., (2000).** Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga Chlamydomonas reinhardtii. Plant Physiology 122: 127-136
- **Melis A., Happe T., (2001).** Hydrogen Production. Green Algae as a Source of Energy. Plant Physiology 127(3): 740-748.
- **Meyer A., Rosgaard L., Sørensen H., (2009).** The minimal enzyme cocktail concept for biomass processing, J. Cereal Sci. 50, pp.337-344.
- **Mohapatra P., (2006).** Biotechnological approaches to microalga culture. In: Textbook of environmental biotechnology. IK International Publishing House Pvt. Ltd, New Delhi, India, pp. 167-200.
- **Molina E., Grima F., Camacho F., Camacho F., Chisti Y. (2000).** Scale-up of tubular photobioreactors, Journal of Applied Phycology, 12 (355-368).

- Nielsen D., Leonard E., Yoon S., Tseng H., Yuan C., Prather, K., (2009). Engineering alternative butanol production platforms in heterologous bacteria, PubMed, 11(4-5):262-73
- Otto Pulz, K., (2001). Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. Appl. Microbiol Biotechnol, 57:p.287-293.
- Patil V., Reitan K., Knudsen G., Mortensen L., Kallqvist T., Olsen E., Vogt G., Gislerød H., (2005). Microalgae as Source of Polyunsaturated Fatty Acids for Aquaculture. Curr. Topics Plant Biol. 6, 57-65.
- Pienkos P., NREL. (2007). The potential for biofuels from Algae, Algae, Biomass Summit, San Francisco, CA (Nov. 15).
- Pirt S., (1986). The Thermodynamic Efficiency (Quantum Demand) and Dynamics of Photosynthetic Growth. New Phytol. 102, 3-37.
- Quercia I., (1979). (Bio Conversion of Solar Energy), First International Symposium an non-Convertional Energy, Trieste, Italy.
- Ragauskas A., Williams C., Davison B., Britovsek G., Cairney J., Eckert C., Frederick Jr., Hallett J., Leak D., Liotta C., Mielenz J., Murphy R., Templer R., Tschaplinski T., (2006). The Path Forward for Biofuels and Biomaterials. Science. 311, 484-489.
- Shapovalov O., Ashkinazi L., (2008). Biobutanol: biofuel of second generation. Russian J. of Applied Chemistry, 81(12), 2232-2236.
- Sheehan J., Dunahay T., Benemann J., Roessler P., (1998). "A Look Back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program-Biodiesel from Algae" National Renewable Energy Program.
- Shifrin N., Chisholm S., (1981). Phytoplankton lipids: interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycles. J. Phycol. 17: 374-384.
- Stambuk B., Eleutherio E., Florez-Pardo L., Souto-Maior A., Bon E., (2008). Brazilian potential for biomass ethanol: challenge of using hexose and pentose co-fermenting yeast strains, J. Sci. Ind. Res. 67, pp. 918–926.

- **Stanbury P., Whitaker A., Hall S., (1995).** Principles of fermentation technology, 2nd ed. Oxford: Elsevier Science Ltd.
- **Tornabene T., Holzer G., Lien S., Burris N., (1983).** Lipid composition of the nitrogen starved green *Neochloris oleabundans*. Enzyme Microb. Technol. 5: 435-440.
- **Tsukahara K., Sawayama S., (2005).** Liquid fuel production using microalgae. J. Japan Petrol. Instit. 48: 251-259.
- **Yu M., Zhang Y., Tang I., Yang S., (2011).** Metabolic engineering of Clostridium tyrobutyricum for n-butanol production, PubMed, 13(4):373-82
- **Weizmann H., (1912).** Cited from Prescott, S. C. and C. G. Dunn, 1959, Industrial Microbiology, 3rd ed. P.935, McGrraw-Hill Book Company, New York, USA.
- **Wyckoff D., Davies J., Melis A., Grossman A., (1998).** The Regulation of Photosynthetic Electron-Transport During Nutrient Deprivation in Chlamydomonas reinhardtii. Plant Physiology 117: 129-139
- **Xiong W., Li X., Xiang J., Wu Q., (2008).** High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbiodiesel production. Appl. Microbiol. Biotechnol. 78: 29-36.
- www.apo-tokyo.org/aple-publi/biogas/b
- www.wired.com/news/technology/0,1282,54456,00.html

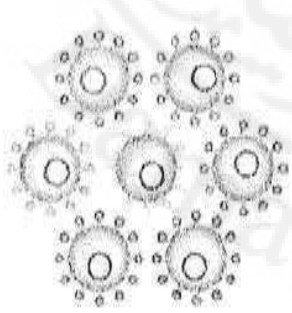
Damascus University

التطبيقات الميكروبيولوجية البيئية

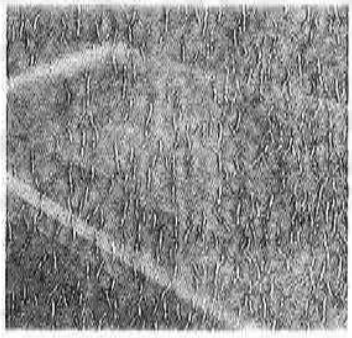
Microbiological Environmental Applications

يتوقع من المتعلم في نهاية الفصل أن يكون قادراً على أن:

- يحدّد أهم تطبيقات الأحياء الدقيقة في المجالات البيئية.
- يسلسل عمليات تفكيك السليلوز بوساطة الأحياء الدقيقة.
- يقارن بين استخراج الخامات التقليدية واستعمال الأحياء الدقيقة.
- يربط بين بنية المركبات النباتية ومدى تفكيكها.
- يذكر أمثلة من الجراثيم والفطريات والطحالب المستثمرة في استخراج المعادن.
- يقترح طريقة لاستعمال الأحياء الدقيقة في استشعار مواد معينة.
- يقدّر أهمية تطبيقات الأحياء الدقيقة في التنمية البيئية المستدامة.







مفاهيم مفتاحية

□ **التضخم الحيوي Biomagnification**

عملية ازدياد بقايا السموم في الشبكة الغذائية التي تحدث في النظام البيئي.

□ **الامتزاز الحيوي Biosorption**

إزالة سلبية للمعادن بوساطة خلايا الأحياء الدقيقة عادة نتيجة تكوين معقدات معدنية–عضوية مع مكونات الجدر الخلوية، والمحافظ أو البوليمرات خارج الخلوية المركّبة، وإفرازها بوساطة الأحياء الدقيقة.

□ **الغسل الحيوي Bioleaching**

عملية تعدين تعتمد على ما تقوم به أنواع معينة من الجراثيم لاستخلاص المعادن من خاماتها غير القابلة للذوبان، كالنحاس واليورانيوم والذهب.

□ **السليلوز Cellulose**

بوليمر طبيعي نباتي، تتكوّن جزيئاته من سلاسل غلوكان طويلة جداً وحداتها غلوكوز يتراوح عدد جزيئاته في سلسلته بين 3 – 10 آلاف جزيئ.

□ **الليغنين Lignin**

مركب معقد، يتكوّن من مواد مختلفة أهمها البروبان الفينيلي، ويسود في النباتات بعد السليلوز، ومتين، ويتصلب ويصبح غير ناقل عند موت الجدر.

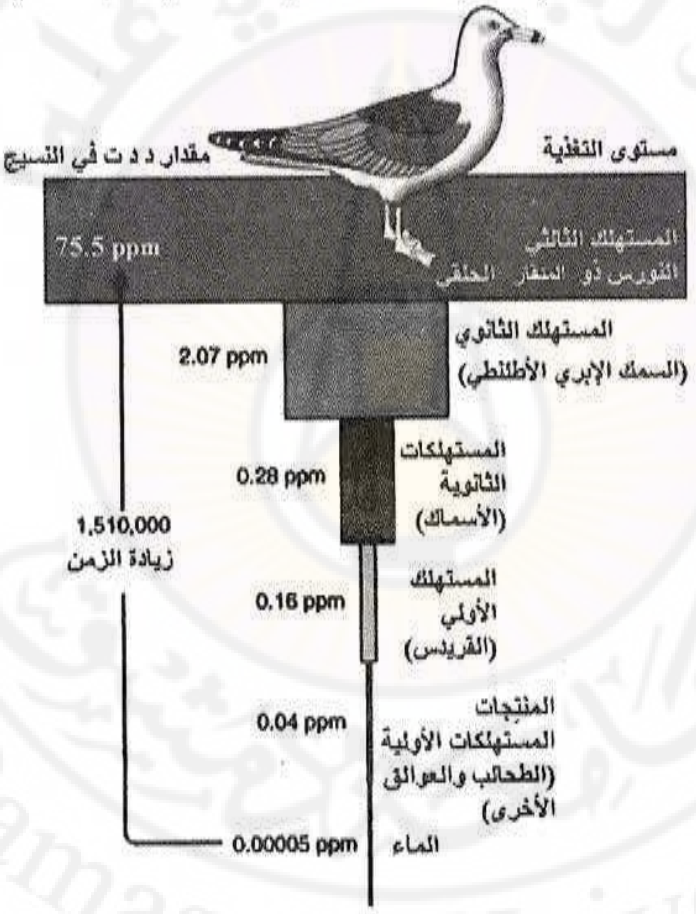
□ **المعالجة الحيوية للمخلفات Bioremediation**

تفيد الأحياء الدقيقة في إزالة سميّة المركبات الكيميائية التي تنتشر في الأوساط البيئية، وبالتالي يمكن استعمالها في مكافحة التلوث البيئي.

□ **المجسّات الحيوية Biosensors**

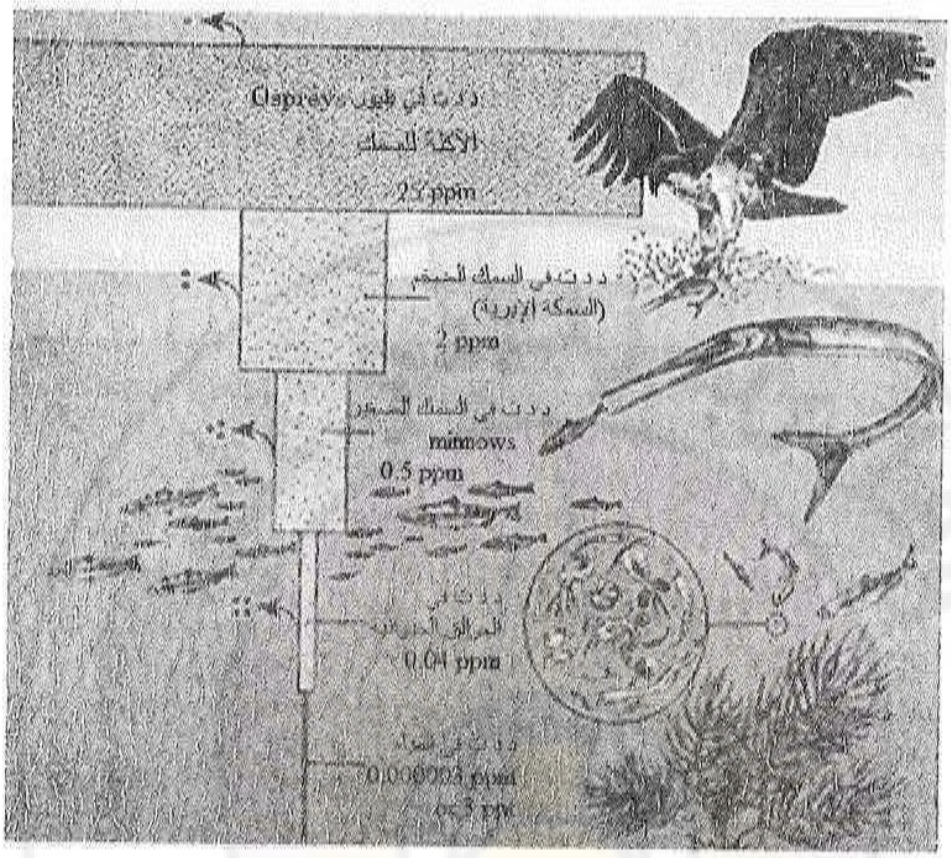
وسيلة تفيد في تحويل الاستجابة الحيوية إلى إشارة كهربائية تدل على تركيز مادة معينة، مثل: الغلوكوز، أو ترصد العمليات الاستقلابية والمستضدات، أو تحدد نوعية الأغذية، ويمكن استعمالها في الرصد البيئي.

تعدّ المعادن الثقيلة من الملوثات المهمة شديدة الخطورة، مثل: الكادميوم والرصاص والزئبق والكروم والزنك والزرنيخ والنيكل وغيرها، يحمل بعضها مخاطر تضر بالبيئة والصحة، فهي تتميز بالتراكم الحيوي Bioaccumulation في نسج النباتات والحيوانات والإنسان، وفي الوقت نفسه، تتجمّع في الأوساط البيئية المختلفة بعملية التضخم الحيوي Biomagnification (الشكل 8-1).



الشكل 8-1 التراكم الحيوي لمبيدات د. د. ت.

ويرتبط التراكم الحيوي وكذلك التضخم الحيوي بالجرعة والاستجابة للمركبات الكيميائية (الشكل 8-2).



الشكل 8-2 عملية التضخم الحيوي في الأوساط البيئية.

تنتقل المعادن الثقيلة مباشرة أو بوساطة السلسلة الغذائية من المياه والترب الملوثة، وقد أصبحت مشكلة جدية في العالم، لأسباب عديدة، مثل: التأثير الضار لبعض هذه العناصر في الأحياء حتى لو وجدت بتراكيز، ولبعضها تأثيرات سامة ومسرطنة (Kar *et al.*, 1992).

يمكن استعمال طرائق مختلفة للتخلص من العناصر الثقيلة، ويأتي في مقدمتها من حيث الأهمية الامتزاز الحيوي، ويقصد به استعمال الأحياء المختلفة كالجراثيم والفطريات والطحالب والنباتات أو منتجاتها في معالجة الملوثات السامة وإزالتها (المعادن الثقيلة والمواد العضوية واللاعضوية) من المياه الملوثة، فقد أمكن إزالة تراكيز مرتفعة من المعادن الثقيلة من المحاليل باستعمال الكتلة الحيوية للأحياء

الدقيقة [Chen and Wang, 2007, Mahore and Rahatgaonkar, 2008, Machado *et al.*, 2009, Sung Wook Won *et al.*, 2010].

أما سمية المعادن الثقيلة فهي بسبب (Giller *et al.* 1998):

- نشوء روابط مستقرة ومعقدات للمعادن الثقيلة مع الزمر الوظيفية؛ في الإنزيمات مما يؤدي إلى تعطيل الجزيئات التي توجه التفاعلات الاستقلابية.
- تتوضع المعادن الثقيلة على غشاء الخلية مما يغيّر بنيتها، ويسبب ذلك إعاقة تبادل الشوارد والمواد العضوية الضرورية للحياة كالبروتينات والسكريات أو منعها كلياً من الانتقال.

تنتشر المعادن الثقيلة في المياه والهواء والتربة، وفي المنتجات الغذائية والتجميلية والدوائية، وفي وقود المركبات، وفي نواتج احتياجات الاستعمال الشخصي للإنسان، ومن الصعب أن يتجنب الإنسان اليوم التعرض للمعادن الثقيلة الخطيرة العديدة المنتشرة في البيئة (Slampova *et al.*, 2001).

يوجد الكادميوم Cd غالباً بكميات قليلة مرافقة لخامات الزنك والنحاس والرصاص، ويُستعمل على نطاق واسع في طلاء الأدوات الكهربائية وصناعة البلاستيك والسبائك والصباغ ومعدات النقل والآلات، وفي التصوير والمواد التلفزيونية المفسفرة، وفي صناعة بطاريات النيكل والكادميوم والبطاريات الشمسية وغيرها. ويلوث الكادميوم البيئة بعمليات التعرية الجوية للصخور بالحرائق والبراكين، أو كنتيجة للمخلفات الصناعية المتنوعة التي تنتهي إلى التربة والمياه (Norman and Earnshaw 1997)، والكادميوم ضار بالكبد والكلى ويسبب هشاشة العظام والعقم والاضطرابات الهضمية أو التنفسية أو المناعية، والضمور في الجهاز العصبي المركزي، والأمراض السرطانية [Brennan, 1996].

يبدو الزئبق Hg أكبر ملوث لمياه المحيطات والبحار والأنهار والبحيرات، مع أنه يأتي غالباً من الطبيعة نفسها وليس من المخلفات الصناعية، كالبراكين والحت الطبيعي للصخور المتضمنة للزئبق، والباقي من المخلفات الصناعية ولاسيما حرق

القمامة واستهلاك الفحم الحجري وصناعة الإسمنت والمبيدات وصناعة الورق [Norman and Earnshaw 1997]، ومن أعراض السمية بالزئبق: حساسية رئوية وعينية وطفح جلدي، وقيء وإسهال، وضمور الأعصاب المخية والكلوية، وغياب التناسق العضلي، وتشوهات جنينية، وفقدان الذاكرة [Lo *et al.*, 1999].

يستعمل الكروم **Cr** في صناعة الصباغ والدباغات، وفي استخراج المعادن وتصفيحها وصناعات الأسمدة وأفلام التصوير وأدوات التكييف (Adeniji 2004)، للكروم الثلاثي أهمية صحية يؤدي نقصانه إلى اضطرابات قلبية واستقلابية وإلى الإصابة بمرض السكري، وزيادته تسبب طفحاً جلدياً، غير أن الكروم السداسي ضار بالصحة؛ إذ يسبب اضطرابات هضمية أو تنفسية، والتهابات جلدية، وضعفاً مناعياً، وضموراً في الكبد والكلى، ويحدث سرطانات رئوية [Adeniji, 2004].

يوجد الرصاص **Pb** في صيغة PbS، وهو ناتج عمليات استخراج المعادن وتصفيحها وصناعة الدهانات والطلاء، والتسميد وصناعة الورق والصباغ، وناتج عن عوادم السيارات وصناعة البطاريات الكهربائية (Adeniji, 2004)، يسبب الرصاص اضطرابات في خضاب الدم وفقر الدم وارتفاع الضغط، وضموراً في الكلى، وعقماً نتيجة تخريب النطاف، وتلفاً في خلايا المخ، وتشوهات جنينية.

يستعمل الكوبلت **Co** على نحو واسع النطاق في صناعة الصباغ والورنيش والبطاريات والصفائح الإلكترونية، كما يدخل الكوبلت المشع في العلاج الإشعاعي وصناعة الأدوية (Holleman *et al.*, 2007)، وله تأثير مفيد أو ضار، يدخل الكوبلت بتراكيز ضئيلة في تركيب الفيتامين B_{12}، لكن التعرّض إلى تراكيز عالية منه يؤدي إلى أضرار قلبية ورئوية [Lo *et al.*, 1999].

يتحد المنغنيز **Mn** مع العناصر كالبورون والكربون والفسفور والسليكون والكبريت، وهو ملوث ينتج عند استخراج المعادن والأسمدة [Norman and Earnshaw, 1997]، له استعمالات مهمّة وعديدة في الصناعة، ويؤدي نقصانه إلى: السمنة وجلطات دموية، وحساسية مفرطة من الغلوكوز، واضطرابات جلدية،

وتشوهات جنينية، لكن زيادة معدّله في الجسم تؤدي إلى: اضطرابات عصبية، وتشنجات عضلية تنتهي بالشلل، وظهور أورام سرطانية [Brennan, 1996].

ينتج النحاس Cu عند استخراج المعادن وتصفيحها، ومن خلال صناعة المبيدات والورق [Adeniji, 2004]، ويؤدي التعرض المهني له إلى الإصابة بالحمى المعدنية التي تشبه أعراضها أعراض الأنفلونزا، وتكون نتيجة الحساسية العالية، ويسبب التعرض له على المدى الطويل تهيجاً في الأنف والفم والعين، وصداعاً وآلاماً في المعدة مترافقة مع قيء وإسهال، وإصابات سرطانية وتدني القدرة العقلية لدى المراهقين.

تعد صناعة الأجهزة الإلكترونية من أهم مصادر الفضة Ag في المخلفات الصناعية، والفضة معدن غير ضار، لكن الاتصال المتكرر به على المدى الطويل يؤدي إلى الحساسية، أما التعرّض إلى الأبخرة المتصاعدة من الفضة فيؤدي إلى الدوار والصداع وصعوبة في التنفس [Brennan, 1996]، كما يسبب اضطرابات هضمية وشعور بعدم الارتياح.

يبلغ تركيز النيكل Ni في صخور قشرة الأرض نحو 90 ملغ في كل كيلوغرام، وفي مياه البحر نحو 2 ملغ في كل لتر من السقط النووي المشع، ويمكن أن يكون كمخلفات في منشآت نووية معينة، وتركيزه منخفض في النباتات، وينتج عن التسميد وصناعة الورق، ويرتبط بشدة مع التربة الطينية فيبلغ 600 ملغ في كل كيلوغرام [Norman and Earnshaw, 1997]، وتؤدي زيادته إلى مخاطر صحية مثل: فشل تنفسي، واضطرابات قلبية، وطفح جلدي، وتشوهات جنينية.

يكون الزرنيخ As غالباً في هيئة مسحوق أبيض سكري يصل إلى المياه من الدباغات ومصانع المبيدات الزراعية، ويمكن اكتشاف وجوده في الأحياء عند التسمم به من خلال تحليل الشعر والأظافر [Adeniji, 2004]، ويتعرّض الإنسان لتأثير الزرنيخ من خلال الأغذية والمياه والهواء، أو من خلال التلامس الجلدي بالتربة أو بالمياه، ويصل إلى الأسماك من المياه، ومن الأضرار الصحية له:

حساسية الجهاز الهضمي، وحساسية رئوية، وانخفاض إنتاج الجسم لكريات الدم الحمراء والبيضاء، وعقم وإجهاض، وسرطانات جلدية ورئوية وسرطانات الكبد والغدد اللمفاوية، وعلى الرغم من ذلك يوجد بكميات ضئيلة في التربة.

يعد التيتانيوم Ti ملوثاً للمياه من خلال صناعة الدهانات والطلاء وصناعة الورق [Norman and Earnshaw 1997].

غير أن غالبية المصانع لا تلتزم بضوابط الصرف الصناعي وتلقي بمخلفاتها في المياه، والطرائق التقليدية للتنقية لا تزيل الملوثات الصناعية كالمعادن الثقيلة.

يمكن تطبيق الامتزاز الحيوي للشوارد المعدنية من المحاليل باستعمال الكتلة الحيوية الجافة أو الحية، وتتضمن العملية طوراً صلباً هو المعدن الثقيل وآخر سائلاً هو المياه الملوثة، وتعتمد على الألفة العالية بين الأحياء الدقيقة والمعدن الممتز ، فتقوم بجذبه وتجميعه حتى يحدث التوازن بين تركيز المعدن المزال وتركيزه المتبقي في المحلول، ويكون بعض الأحياء الدقيقة [Gadd and Rome, 1988] واسع الطيف، فيعمل على إزالة العديد من المعادن الثقيلة، ويمتز بعضها الآخر معدناً معيناً بشدة.

وهناك زمر كيميائية مختلفة تعمل على جذب المعادن وحجزها في الكتلة الحيوية، مثل: زمر الأسيت أميد والكيتين، وعديدات السكر في الفطريات، والزمر الأمينية والفسفاتية في الحموض النووية، وزمر السلفُدريل والكربوكسيل في البروتينات، والهدروكسيلات في عديدات السكر ، والهدروكسيل والكربوكسيل في عديدات السكر في الطحالب البحرية [Ahalya *et al.*, 2003]، غير أن وجود هذه الزمر لا يعني ضمان الإزالة الحيوية بالضرورة.

وتعتمد آليات الإزالة الحيوية للملوثات على الاستقلاب الخلوي أو لا تعتمد عليه [Ahalya *et al.*, 2003]، ويمكن تقسيم هذه الآليات، اعتماداً على مكان تموضع المعدن على الخلية أو وجوده ضمنها، إلى آلية ترسيب أو تراكم خارج خلوي، وآلية سطحية، وأخرى داخلية.

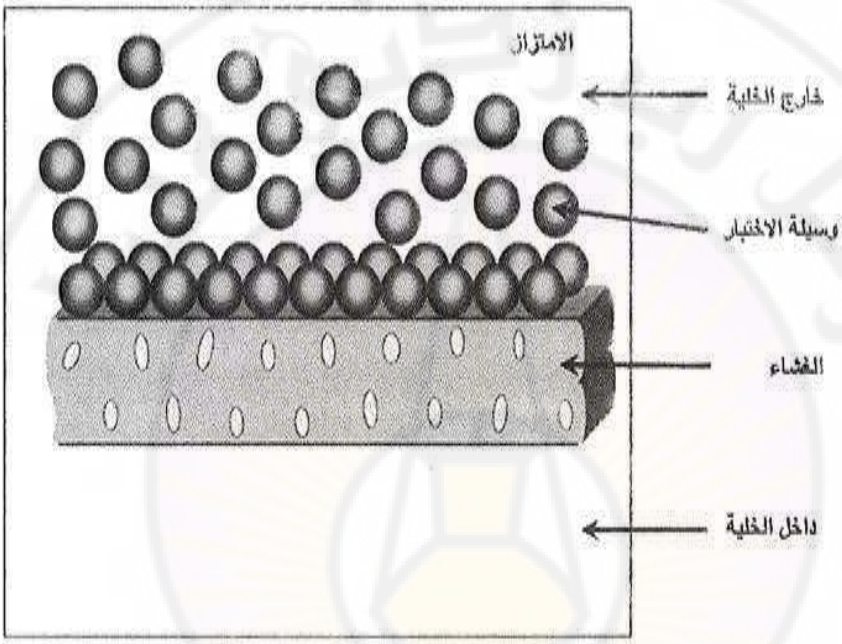
يؤدي نقل المعدن عبر الغشاء الخلوي إلى التراكم الحيوي في الخلية اعتماداً على الاستقلاب الخلوي، ويتحقق ذلك في الخلية الحية فقط، أما في الحالات الأخرى فتحدث الإزالة الحيوية للمعدن نتيجة التفاعلات الفيزيائية الكيميائية بين المعدن والزمر الوظيفية الموجودة على سطح خلايا الأحياء الدقيقة، مثل الإزالة الحيوية غير المعتمدة على الاستقلاب الخلوي، مثل: عمليات التبادل الأيوني Ionic Exchange والامتزاز Absorption (Ahalya *et al.*, 2003).

تحدث الإزالة الحيوية باستعمال الكتلة الحيوية للأحياء الدقيقة التي تحتوي مركبات لها زمر ارتباط مع المعدن لا يعتمد على الاستقلاب، وهذا النمط سريع وقابل للعكس [Kuyucak and Volesky, 1998]، ويمكن أن يترسب المعدن المزال في المحلول أو على سطح الخلية [Ercole *et al.*, 1994]، ويحدث ترسيب معتمد على الاستقلاب الخلوي عند إنتاج مركبات محفزة للعملية بوجود المعدن السام [Ahalya *et al.*, 2003].

ويمكن أن ينقل الغشاء الخلوي Cell membrane المعدن بالآلية نفسها المستعملة في نقل الأيونات المهمة استقلابياً كالصوديوم والبوتاسيوم والمغنزيوم، ويحدث أن تضطرب الجمل الناقلة للمعدن بوجود شوارد المعادن الثقيلة ذات الشحنة نفسها، ولا يعتمد هذا النمط على الاستقلاب؛ إذ يرتبط المعدن الثقيل مع الجدر الخلوية، أو يكون معتمداً عليه، فينتقل المعدن عبر الأغشية الخلوية [Gadd and Rome, 1988, Costa *et al.*, 1996].

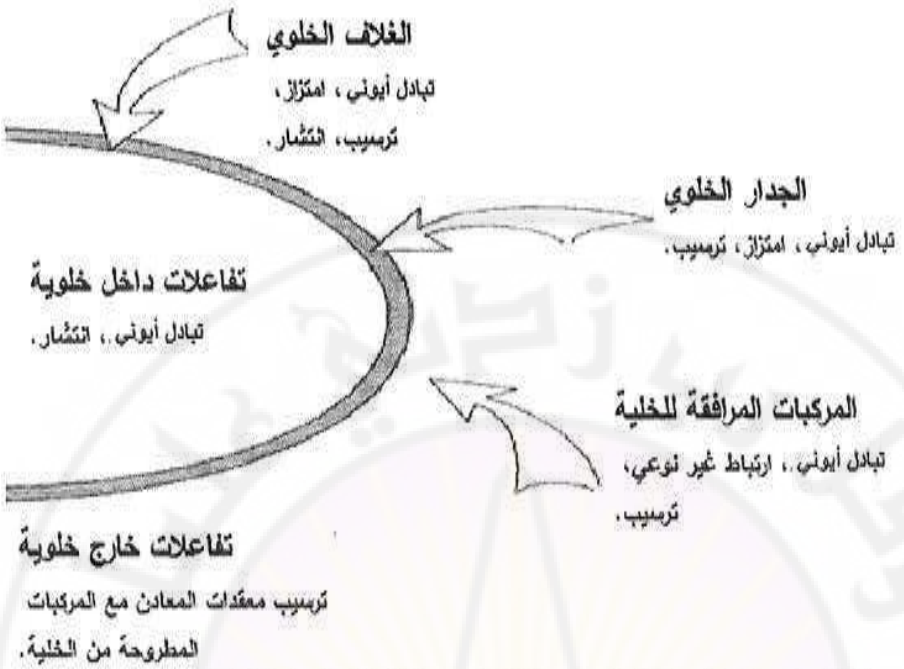
ويحدث الامتزاز الفيزيائي بوساطة قوى فيزيائية خاصة؛ إذ تمتز الكتل غير الحية للطحالب والفطريات والخمائر معادن اليورانيوم والكادميوم والزنك والنحاس نتيجة تفاعلات كهربائية ساكنة بين الشوارد المعدنية في المحاليل والجدر الخلوية للأحياء الدقيقة [Kuyucak and Volesky, 1998]، ويحدث التبادل الشاردي للأيونات المعدنية ثنائية التكافؤ مع الأيونات المحيطة بعديدات السكر في الجدر الخلوية، مثل: الصوديوم والبوتاسيوم والكلسيوم والمغنزيوم [Thakur, 2006].

وتتجمع المعادن المزالة من المحلول في هيئة معقدات على سطح خلايا الأحياء الدقيقة بعد حدوث تفاعلات المعادن والزمر الوظيفية الفعالة للخلية (الشكل 8-3)، ويمكن أن تنتج الأحياء الدقيقة حموضاً عضوية (كالستريك واللاكتيك والفوماريك والغلكونيك)، تفيد في تحليل المعدن وتسهيل ترشيحه خلال السطوح الخلوية.



الشكل 8-3 عملية امتزاز العناصر الثقيلة.

ويعتمد الترسيب Precipitation أيضاً على الاستقلاب الخلوي، وفي هذه الحال ينضم المعدن المزال إلى جملة دفاعية فعالة في خلايا الأحياء الدقيقة تنشط بوجود المعدن السام وتُدفع للترسيب [Thakur, 2006]، أما الاستقلاب غير المعتمد على الترسيب، فيحصل نتيجة تفاعل كيميائي بين المعدن والسطح الخلوي (الشكل 8-4).



الشكل 8-4 آليات إزالة المعادن الثقيلة بوساطة الأحياء الدقيقة [Thakur, 2006].

أما العوامل المهمة في الإزالة الحيوية، فهي كالآتي:

- لا تؤثر درجة الحرارة في عملية الإزالة الحيوية، عندما تتراوح بين 20 – 35 س ° [Aksu *et al.*, 1992].
- يؤثر الرقم الهدروجيني بوضوح في العملية نتيجة التأثير في كيميائية محاليل المعادن المزالة، وفي فاعلية الزمر الوظيفية للكتل الحيوية، وفي المنافسة بين الشوارد المعدنية [Wang *et al.*, 1997]، وكلما انخفض التركيز زادت نوعية الإزالة [Gadd and Rome, 1988].
- تتأثر إزالة أيون معدني معيّن بوجود أيونات معدنية أخرى؛ إذ يؤثر وجود الحديد والزنك في امتزاز اليورانيوم بوساطة فطريات النوع *Rhizopus oryzae* [Volesky, 1986]، ويمنع وجود الرصاص والزئبق والنحاس واليورانيوم امتزاز الكوبلت بوساطة الأحياء الدقيقة [Nakajima *et al.*, 1991].

الجراثيم

يمكن أن تسهم الكتلة الحيوية للجراثيم، مثل: *Bacillus, Streptomyces, Citrobacter*، كمُنتَج مخلفات من تخمر الصناعات التي تجعلها مادة خام رخيصة، ولكن الكتلة الحيوية الخام تتضمن بقايا المركبات الكيميائية التي تؤثر في ارتباط المعادن، ويمكن أن يكون المنتج كميات متباينة بسبب تنوع ظروف التخمر، وقد تكون ضرورية لاستيقاف الكتلة الحيوية قبل تطبيقها في المفاعل الذي يضاف إلى الكلفة، ومن أهم أنواع الجراثيم المستثمرة في امتزاز المعادن (الجدول 8-1).

الجدول 8-1 أنواع الجراثيم المستثمرة في امتزاز المعادن.

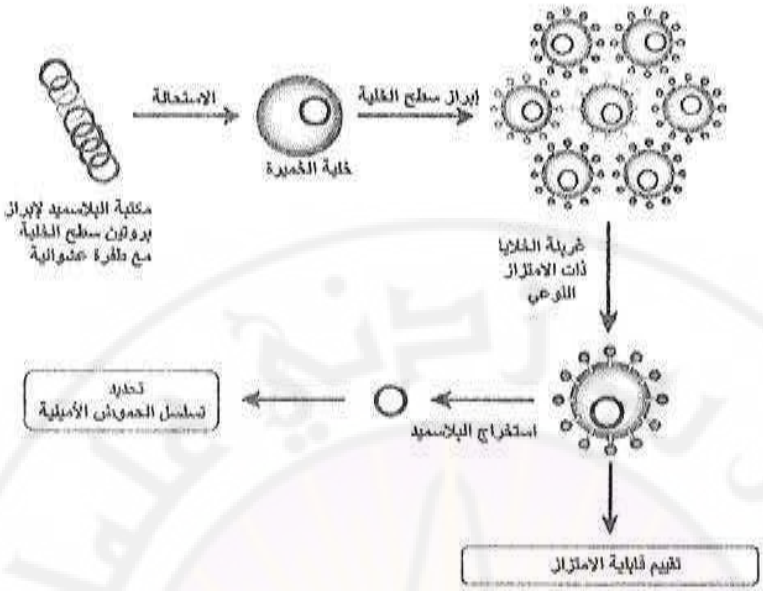
الجراثيم	المعدن الممتز	المرجع
Bacillus polymyxa	Cu	Philip and Venkobachr 2001
Bacillus coagulans	Cr(VI)	Srinath *et al.*, 2003
Escherichia coli	Hg	Weon *et al.*, 2003
Escherichia coli	Cu, Cr, Ni	Churchill *et al.*, 1995
Pseudomonas species	Cr(VI), Cu(II),Cd(II), Ni(II)	Muraleedharan *et al.*, 1991

الفطريات

تُستعمل الكتلة الحيوية الحية أو الجافة للفطريات في امتزاز الشوارد المعدنية أو المواد المشعة من الصرف، ويمكن تطبيقها لاستخراج المعادن الثمينة على نحو استثنائي، وتُستعمل تجارياً لهذا الغرض.

يحدث الامتزاز الحيوي للنحاس بوساطة الفطر *Chiarella vulgaris* عن طريق تكوين روابط متعادلة بين المعادن والزمر الأمينية والكربوكسيلية لعديدات السكر في الجدر الخلوية [Aksu *et al.*, 1992]، ويؤثر وجود الحديد والزنك في امتصاص اليورانيوم بوساطة فطر *Rhizopus oryzae* (Volesky 1986).

يوضح الشكل 8-5 عملية الارتباط بين الخلية والمعادن اصطفائيا وطرائق زيادة الفاعلية.



الشكل 8-5 اصطفاء الخلايا لغرض زيادة امتزاز المعادن.

تتميز خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* بقدرة على إزالة المعادن السامة واستعادة المعادن الثمينة وتخليص المسطحات المائية من العناصر المشعة الملوثة، كالحديد ثلاثي أو ثنائي التكافؤ، والنحاس Cu^{2+}، والرصاص Pb^{2+}، والفضة Ag^{+}، والزئبق Hg^{2+}، والنيكل Ni^{2+}، والكادميوم Cd^{2+}، والكروم Cr^{3+}، والكوبلت Co^{2+} وغيرها؛ إضافة إلى العناصر المشعة، كاليورانيوم U والراديوم Ra. يمكن أن تسبب المعادن الثقيلة تغيرات مورفولوجية في خلايا خميرة الخبز نتيجة التأثيرات الاستقلابية أو المطفّرة في الخلية. ويبين الجدولان 8-2 و 8-3 بعض أنواع الفطريات المستعملة في الامتزاز الحيوي للمعادن.

الجدول 8-2 بعض أنواع الأعفان المستعملة في الامتزاز الحيوي للمعادن.

الأعفان	المعدن الممتز	المرجع
Phanerochaete chrysosporium	Ni(II), Pb(II)	Haluk and Ulki 2001
Aspergillus niger	Cd	Barros *et al.*, 2003
Aspergillus fumigatus	Ur(VI)	Bhainsa and D'Souza 1999
Aspergillus terreus	Cu	Ruchi *et al.*, 2003
Penicillium chrysogenum	Au	Niu and Volesky 1999

الجدول 8-3 أنواع خمائر مختلفة مستعملة في الامتزاز الحيوي للمعادن.

الخميرة	المعدن الممتز	المرجع
Saccharomyces cerevisiae	Ur	Volesky and May-Phillips 1995
Saccharomyces cerevisiae	Cd	Bashar *et al.*, 2003
Kluyveromyces fragilis		
Saccharomyces cerevisiae	Methy mercury and Hg(II)	Madrid *et al.*, 1995

الطحالب

يمكن استعمال الطحالب الدقيقة أو الطحالب البحرية الضخمة في إزالة العناصر الثقيلة من المحاليل (الجدول 8-4).

الجدول 8-4 أنواع طحالب مختلفة مستعملة في الامتزاز الحيوي للمعادن.

الطحالب	المعدن الممتز	المرجع
Chlorella emersonii	Cd	Arkipo *et al.*,2004
Sargassum muticum	Cd	Loderro *et al.*, 2004
Ascophyllum sargassum	Pb, Cd	Volesky and Holan 1995
Ulva reticulate	Cu(II)	Viajayaraghavan *et al.*, 2004
Brown sea weeds	Cr	Yeoung-Sang *et al.*, 2001
Ecklonia species	Cu(II)	Park *et al.*, 2005

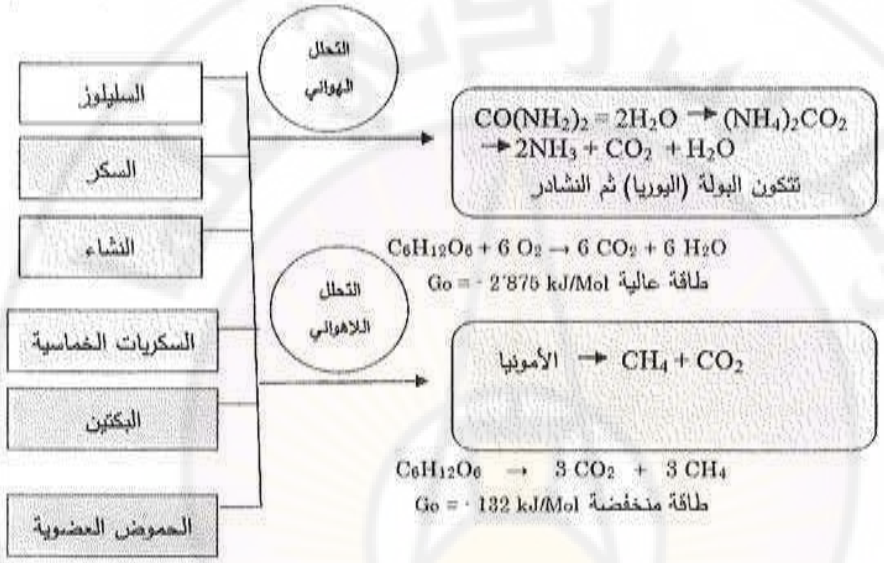
820 المعالجة الحيوية للمخلفات Bioremediation

الجراثيم

يمكن مكافحة التلوث في الترب الملوثة بالنترات، ولاسيما المروية بالمخلفات السائلة المنزلية أو بمخلفات الحظائر ومزارع تربية الحيوانات، باستعمال الجراثيم التي تهضم الملوثات التي يصعب التخلص منها في الترب الملوثة، كالنترات، إذ تفيد الأحياء الدقيقة في إزالة النتروجين من التربة أو المياه الملوثة أو الشروبة بفعل جراثيم شديدة الشراهة لهضم النترات وتحويلها إلى النتروجين، فقد تمكن فريق

فرنسي في هيئة الطاقة الذرية الفرنسية (CEA) من اكتشاف أحد أنواع الجراثيم النازعة للنتروجين *Pseudomonas halodenitrification* القادرة على التحويل بمردود عالٍ جداً، إذ تهضم 40 كغ من النترات يومياً في مفاعل سعته متراً مكعباً بكلفة منخفضة جداً [La Biodépollution 1996].

يمكن تلخيص مبدأ التخمر لمجمل المخلفات العضوية (الشكل 8-6) كالآتي:



الشكل 8-6 تخمر المخلفات العضوية.

يمكن استعمال الجراثيم المهندسة وراثياً للكشف عن الملوثات الكيميائية الصناعية أو خلائطها كحل بديل وسريع النتائج بكلفة أقل بكثير منها في اختبارات السمية التي كانت تجري على الحيوانات في المختبر، لإظهار النشاط الطفري والسرطاني باختبارات السمية الوراثية Genotoxicity في الوسط الصنعي، لتقييم سمية الكيميائيات أو خلائطها للإنسان، على أمل أن يجري تنفيذ تلك الاختبارات لاحقاً في مزارع لخلايا الإنسان أُخذت من أعضاء ونسج مختلفة بحيث يمكن الإجابة عن السمية في الإنسان مباشرة.

وعليه، إنشاء منظومات اختبارية حيوية تعتمد على الطرز الجرثومية المعدلة وراثياً مثلاً لإظهار رد الفعل على التغيرات البيئية المحتملة من خلال التحريض،

بإظهار التأثير المباشر للمطفرات، أو إظهار التأثير غير المباشر للمطفرات الأولية Promutagen في حال وجود نشاط استقلابي (دركزنللي 2002)، ومن وسائل التطفير يمكن ذكر :

- ✓ الطرائق الوراثية: كالاقتران الجرثومي، وضم البلاسميدات إلى الخلايا.
- ✓ الطرائق الفيزيائية الكيميائية: كعزل الدنا والبلاسميدات، وقطع الدنا بالإنزيمات والبلاسميدات، والرحلان الكهربائي، وتعريض الجراثيم للأشعة فوق البنفسجية، والتقدير الكمي لنشاط الإنزيمات بيتا غالاكتوزيداز.

الفطريات

يمكن معالجة المخلفات الصناعية وإزالة المعادن الثقيلة باستعمال خمائر *Candida utilis* وخميرة الخبز *Saccharomyces serevisiae* التي تراكم اليورانيوم حتى 15% من وزنها الجاف، ويفكك العديد من الفطريات الخيطية مركبات الفينول المعقدة الموجودة في الخشب، مثل: *Fusarium flocciferum*.

وتفكك خمائر *Lipomyces* المبيدات، وتفكك الأعفان *Fusarium solani* المبيد العشبي، وتفكك الأعفان *Trichoderma viride* المبيد الحشري Malathion وغير ذلك.

الطحالب

تفيد الطحالب الدقيقة في معالجة المخلفات السائلة المنزلية، وتتميز بفاعلية عالية في إزالة المغذيات: كالنتروجين N والفسفور P [Gupta *et al.*, 2001]، وإن كان استعمالها يواجه مشكلة بسبب قدرتها المنخفضة على المعالجة في الطقس البارد أو مع خضوع الطحالب الحية لظروف الإضاءة [Wang *et al.*, 2004]، إذ ينخفض التركيب الضوئي والإنتاجية في الفصل البارد بسبب انخفاض الشدة الضوئية وانخفاض درجة الحرارة عن الدرجة المثلى للنمو.

تُستعمل الطحالب في المعالجة الحيوية للملوثات التي تتضمن واحداً أو أكثر من الملوثات، مثل: حموض مصارف المناجم [Rose *et al.*, 1998]، وهي وسيلة

لإزالة المعادن الثقيلة [Gupta *et al.*, 2001, Yalcin *et al.*, 2008]، ومادة للامتزاز الحيوي لعنصر أو أكثر منها [Vijayaraghavan 2008]، أو لمعالجة مياه الغسيل الناتجة عن صناعة استخلاص زيت الزيتون [Hodaifa *et al.*, 2008]، أو المركبات الكيميائية [Joseph and Joseph 2001].

وتفيد نسج الطحالب في بعض الحالات لعشر دورات في امتزاز العناصر الثقيلة وإزالتها [Brinza *et al.*, 2007]، وتعتمد الطريقة الأحدث للمعالجة على تطهير المخلفات السائلة وتركها كوسط حر للنمو المتواقت للأنواع المطلوبة؛ إضافة إلى استعمال الطحالب في معالجة الملوثات الخطرة التي يجب تفكيكها هوائياً وتصعيدها في ظروف التهوية الآلية؛ لأن الطحالب منتِجة للأكسجين وبذلك تقلل الحاجة إلى التهوية الزائدة.

تُستعمل الطحالب بنجاح في المعالجة الثانوية والثالثية للمخلفات السائلة الصناعية [Craggs *et al.*, 1996, Craggs 2000]، وفي إزالة الصباغ Dyes من المخلفات السائلة، مثل زرقة المثلين Methylene blue [El Sikaily *et al.*, 2006]، وكذلك في التخلص من المركبات السامة في مزارع البرك الصغيرة [Craggs *et al.*, 2004]، ومعالجة المخلفات السائلة وسوائل السماد الناتجة عن تربية الحيوانات ضمن برك.

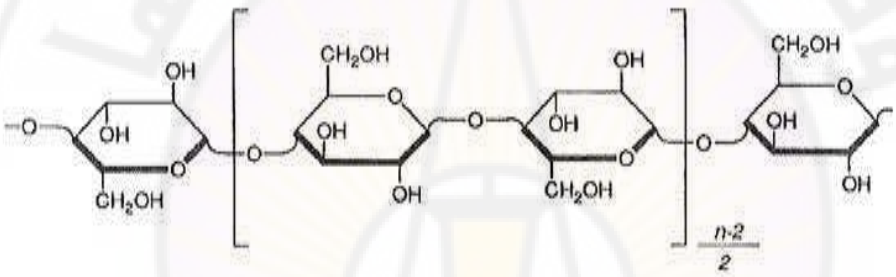
يمكن أن تفكك طحالب *Ochromonas danica* الفينولات في الظلام وفي الظروف الهوائية (Semple *et al.*, 1999)، وهناك أنواع من الطحالب التي تستعمل المصادر الكربونية في المخلفات السائلة الصناعية الغنية بالمركبات العضوية، فتسهم في المعالجة الحيوية [Chen and John 1991].

وتكون الكتلة الحيوية ومحتوى الشحوم أعلى في *Chlorella protothecoides* عند تنميتها على الأسيتات والغلوكوز والمركبات العضوية [Wu *et al.*, 1994]، ويفيد بعض الأنواع مثل *Scenedesmus acuminatus* في معالجة مياه الصرف المنزلي.

831 حلمهة السليلوز بالإنزيمات

Hydrolysis of Cellulose by Enzymes

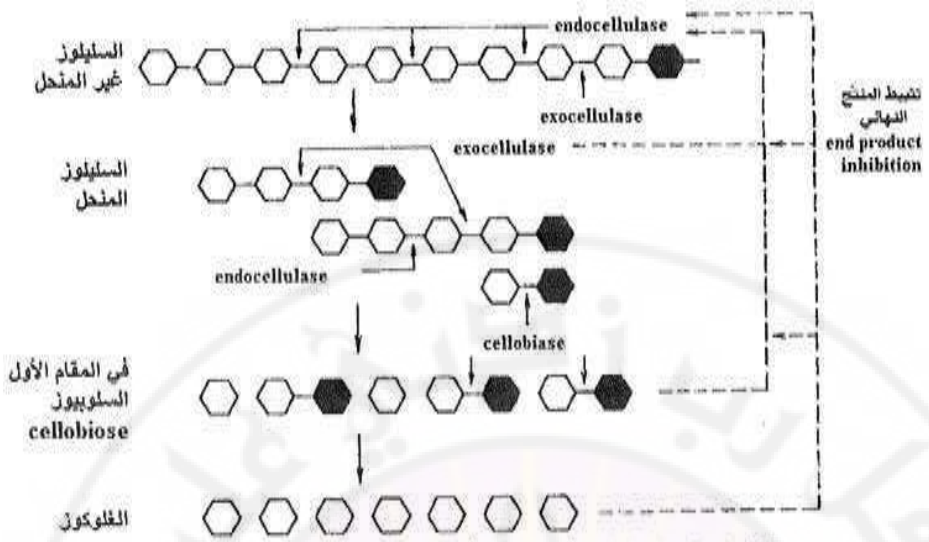
السليلوز بوليمر طبيعي نباتي أساسي يكوّن 40 – 50% من الجدر الخلوية في النباتات البالغة، وهو أكثر السكريات انتشاراً، وتتكوّن جزيئات السليلوز من سلاسل غلوكان طويلة جداً ومستقيمة نحو 3000 وحدة غلوكوز (ربما توجد عشوائية – سليلوز ذو شكل معين، أو في نسج دقيقة محكمة – سليلوز بلوري) (الشكل 8–7).



الشكل 8–7 بنية السليلوز.

السليلوز مركب غير منحل بالماء بل ينتفخ فيه فقط، ويتحلمه بوساطة حمض الكبريت الكثيف وبالغليان، وتعطي الحلمهة الجزئية السلبيوز – السكر الثنائي. يختلف الوزن الجزيئي للسليلوز؛ إذ يتراوح عدد جزيئات الغلوكوز بين 3 – 10 آلاف جزيئة في سلسلته.

تتكون الإنزيمات المفككة للسليلوز من ثلاثة أنماط مفككة للرابطة الغلوكوزيدية β 1–4 في جزيء السليلوز (الشكل 8–8)، وهي جميعاً محرَّضة بوجود السليلوز فقط، وهناك مجموعة من الأحياء الدقيقة المنتِجة للسليلاز، ولاسيما الفطريات والجراثيم، وإن كانت أنواع قليلة يمكنها إنتاجه بكميات معنوية من إنزيمات الخلايا الحرة القادرة على حلمهة السليلوز البلوري في الزجاج.



الشكل 8-8 الحلمهة الإنزيمية للسليلوز [Saddler 1986].

تبدو الفطريات أساسية في إنتاج السليلاز [Mangelli and Forchiassin, 1999, Shin *et al.*, 2000]، ومن أكثر الفطريات إنتاجاً للسليلاز:

Trichoderma viride, Aspergillus niger, Chaetomium thermophile, Sporotrichium pulverulentum, Fusarium, Merothecium.

تُستعمل هذه الفطريات لإنتاج السليلاز تجارياً؛ إذ يضاف إلى مصدر الكربون الوحيد (السليلوز) المركبات النتروجينية مع بعض الأملاح اللاعضوية، وتستعمل في إنتاج سكر الغلوكوز من المخلفات السليلوزية، وفي تحضير مركزات القهوة وفي الأغذية. وأمكن تطبيق أعفان *Trichoderma* و *Aspergillus* في المجال التجاري للاستعمال الزراعي والصناعي [Kazuhisa 1997].

وهنالك بضعة أنواع من الجراثيم والشعيّات التي تتصف بإنتاج الإنزيمات المفككة للسليلوز، مثل: *Pseudomonas*، *Cellulomonas*، *Bacillus*، *Micrococcus*، *Cellovibrio*، *Sporocytophaga spp.* [Nakamura and Kppamura 1982]، وتوجد مواد سليلوزية طبيعية يمكنها تثبيط تحويلها الحيوي [Solomon *et al.*, 1999]، حتى أصبح معروفاً التحويل الحيوي لمختلف معقدات

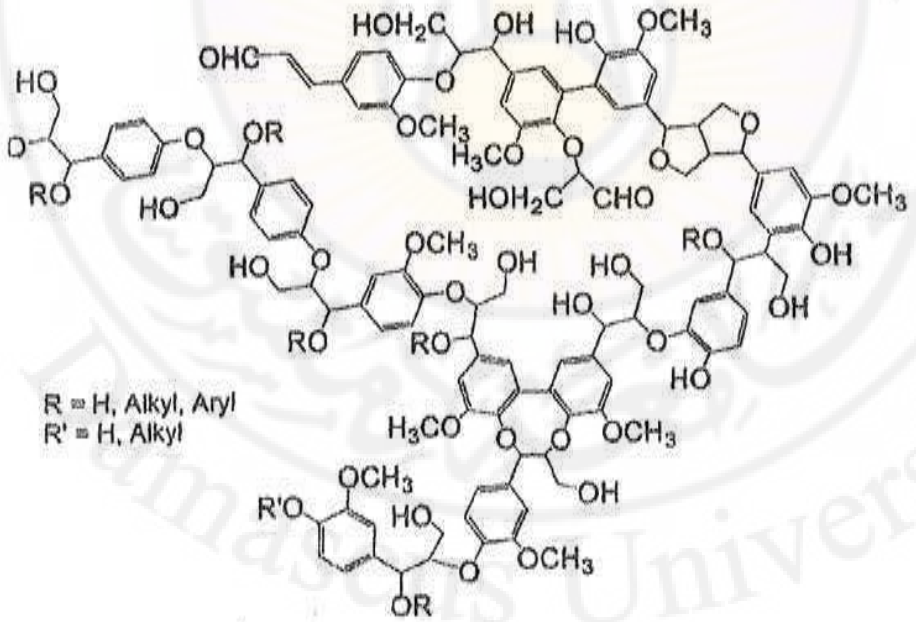
مواد المخلفات السليلوزية لقصب السكر [Kanosh *et al.*, 1999]، وعيدان الذرة [Ojumu *et al.*, 2003] والقش والأوراق [Solomon *et al.*, 1990].

840 اللجنين Lignin

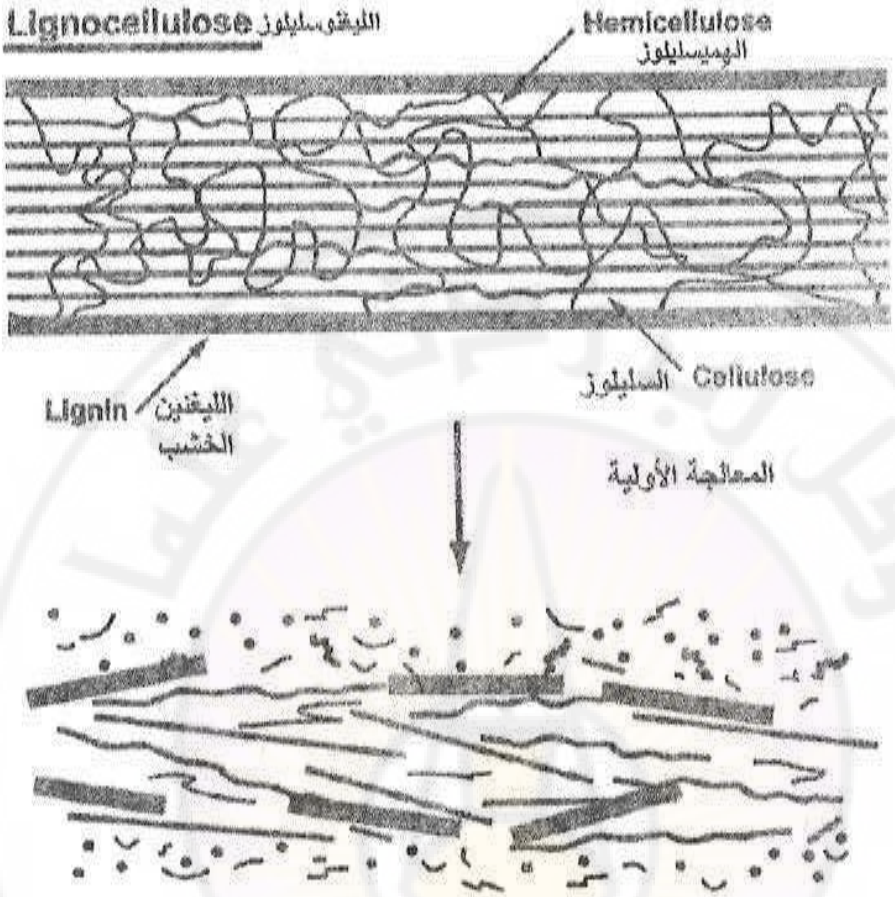
يأتي الخشب بعد السليلوز من حيث انتشاره، وهو بوليمر طبيعي معقد وصعب التفكك، وبالتأكيد هناك عدد قليل من الأحياء الدقيقة والرئيسة منها الفطريات والشعّيات التي تمتلك الإنزيمات المهمة القادرة على تقويض الخشب.

تفيد المعالجة الحيوية للخشب في إنتاج اللب الخشبي للورق، بفعل الفطريات المطفرة، وتعمل أيضاً على تبييض اللب وإنتاج ورق بنوعية عالية، يتعرض الخشب للتعفن الجاف بالفطر الدعامي *Serpula lacrymans*، أو للتعفن الطري بفعل أنواع الفطريات: *Coniophora puteana*، *Fibroporia vaillantii*.

وللخشب البنية الآتية [Okafor, 2007] (الشكل 8-9)، أما المعالجة الأولية للمواد الليغنوسليلوزية فيوضحها الشكل 8-10.



الشكل 8-8 البنية العامة للخشب (اللغنين).



الشكل 8-8 تأثير المعالجة الأولية في المواد اللجنوسليلوزية (عن Hsu *et al.*, 1980).

860 الغسل الحيوي Bioleaching

كان عمال المناجم يستخلصون النحاس في منطقة حوض البحر المتوسط، منذ 3000 سنة؛ إذ كانت تغسله الجراثيم في مياه صرف المناجم، وإن كانوا غير مدركين لفعل الجراثيم المذهلة، ثم عرف الرومان في القرن الأول، وكذلك سكان ويلز في القرن السادس عشر، فالإسبان في القرن الثامن عشر عملية الغسل الجرثومي في استخلاص المعادن [ماركس 2009].

وقد أمكن التأكد من مساهمة بعض الأنواع الجرثومية القادرة على غسل المعادن من خاماتها في العشرينات من القرن العشرين فقط، غير أن تحديد أنواعها تأخر حتى العام 1947، وكان النوع *Thiobacillus ferooxidans* مسؤولاً عن غسل خامات كبريت الحديد أساساً، ولكن هذه الطريقة معروفة في كثير من بلدان العالم، إذ تُغسل المعادن من خاماتها المتباينة غير القابلة للذوبان، كالنحاس واليورانيوم والذهب، وإن كان من الممكن غسل الكوبلت والزنك والنيكل وغيرها.

وفي العديد من الحالات، يمكن استعمال الجراثيم في غسل المعدن المطلوب من الترسيبات العميقة أو من التراكيز المنخفضة من دون الحاجة لإزالتها من أعماق الأرض، أي بكلفة أقل بكثير، وقد يكون الغسل الحيوي للخامات والركازات، بما يتطلبه من قدر قليل من الطاقة، الطريقة البديلة للعمليات الموفرة للطاقة عند استخراج المعادن من خاماتها، وفي الوقت نفسه يجري صون البيئة من مصادر التلوث الخطير.

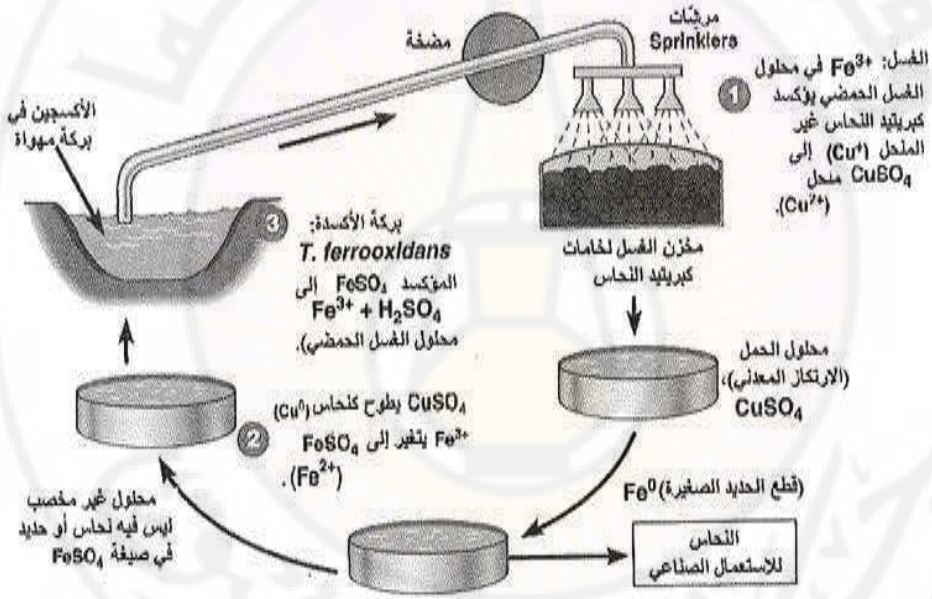
تفيد الأحياء الدقيقة ذاتية التغذية الكيميائية في استخراج المعادن من خاماتها Ores، مثل: أجناس *Thiobacillus*، *Leptospirillum*، *Sulfolobus*، حيث تنمو في غياب مصدر الكربون العضوي باستعمال ثنائي أكسيد الكربون، ويمكنها إزالة الكبريت من الوقود الأحفوري المسبب الرئيس للمطر الحمضي.

تنتشر الأحياء الدقيقة الأكثر أهمية في التطبيقات الصناعية في البيئات القاسية التي تتصف بتأثيراتها النوعية كالقيمة المنخفضة لرقم الهدروجين ودرجة الحرارة العالية، مثل أنواع الجراثيم: *Thiobacillus ferooxidans*، *T. thiooxidans*، *Leptospirillum ferooxidans*، وتستمد الطاقة من أكسدة المواد اللاعضوية، وغالباً ما تكون مزارع الجراثيم المختلطة أكثر كفاءة في العملية، ولاسيما مع جراثيم النوع *Acidiphilium cryptum* ألبفة الحرارة.

يمكن إزالة الحديد من الرمل المحتوي نحو 0.1% حديد، ومن الكاولين Kaolins مع حديد ذي محتوى أعلى نحو عشر مرات، ويصبح الرمل المعالج

ملائماً لصناعة الزجاج عالي النوعية (Groundev, 1987)، كما أن تصفية الحديد من الكاولين يزيد من بياضه، ويصبح أكثر ملاءمة للاستعمال الصناعي كالبورسلان (أطباق الصيني) والورق عالي النوعية، وأكثر تحملاً للنار (يتحمل درجة الحرارة 1670 – 1750 س°)، لتجعلها مثالية لتشكيل المواد المقاومة للحريق.

إن الفطريات، مثل الأنواع: *Penicillium expansum, Scopulariopsis brevicaulis, Aspergillus niger* تتمكن من تحطيم الشعيرات البلورية لسيليكات الألمنيوم والسيليكات لتحرير الألمنيوم [Wainwright, 1992]، ويمكن توضيح عملية الغسل الحيوي لاستخراج المعدن بالشكل 8–11.



الشكل 8–11 التعدين الميكروبيولوجي: الغسل الحيوي لخامات النحاس.

ونظراً إلى ازدياد الطلب على المعادن، تبرز ضرورة استعمال الأحياء الدقيقة لاستخراج أكبر قدر ممكن من المعادن المهمة، ويتطلب ذلك أيضاً دراسة الوراثة الجزيئية للأنواع المهمة في هذا المجال، وتحسينها، وقد يكون ضرورياً أيضاً استعمال أنواع أخرى من الجراثيم الموشبة، كالآتي:

- تحديد الصفات المناسبة، فهناك واسمات Markers لتحديد واختيار السلالات الجرثومية المحوّرة وراثياً.
- تحديد وتمييز جزيئات الدنا المفيدة في إدخال مورثات جديدة إلى الأنواع الجرثومية المطلوبة.
- يجب تطوير وسيلة الإدخال في السلالات الآخذة باستعمال البلاسميدات التي تحمل صفات إضافية ولاسيما للمقاومة.
- يجب عزل المورثات المرمزة للصفات المطلوبة، وإدخالها في الأنواع الجرثومية المطلوبة للاستثمار.
- يجب أن تكون الجراثيم المحورة مقاومة للتسمم بالمعدن الثقيل، وقد تتطلب تنميتها عناصر غذائية أخرى.
- يمكن بالتحوير الوراثي تحسين قدرة السلالة على استخلاص المعدن في خامات تتضمن مركبات أخرى سامة.
- يمكن تحسين العملية باستعمال طافرات يمكنها النشاط بتأثير عوامل النمو كأحد الحموض الأمنية أو الفيتامين أو مادة غذائية أخرى.

860 الأنسجة Tissues

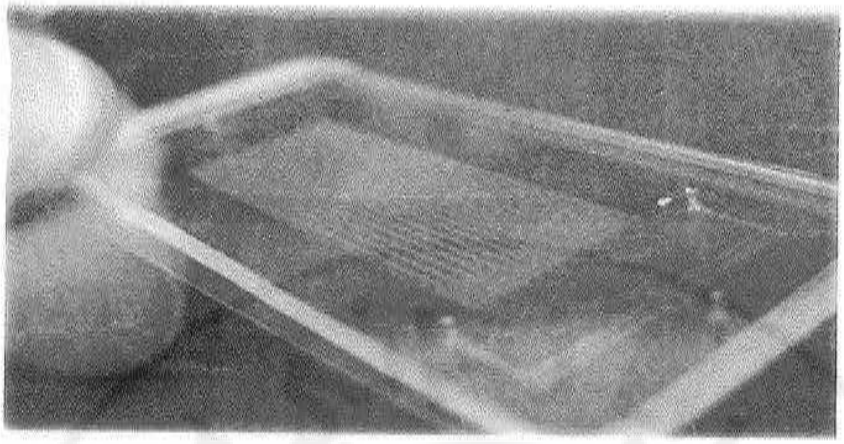
يمكن استعمال الفطريات الخيطية لإنتاج الأنسجة [Wainwright 1992]، وهي قادرة على هضم الكتب والصباغ ولاسيما عند خزنها في ظروف غير مناسبة وحارة، وأهمها الجنس *Aspergillus*، ويمكنها خدش الزجاج ولاسيما العدسات اللاصقة، وتنمو الأعفان *Cladosporium resinae* على وقود الطائرات في صهريج الوقود والمرشحات مكونة حموضاً أو عوامل تآكل بديلة ربما تؤدي إلى أضرار كبيرة وكارثية، وتهاجم الفطريات الجلود والصمغ والأدوية ومستحضرات التجميل ولاسيما عند خزنها في ظروف غير ملائمة، وكذلك البلاستيك ولاسيما في التجهيزات الكهربائية، ما عدا البوليوريتان Polyurethans المقاوم.

870 المجسّات الحيوية Biosensors

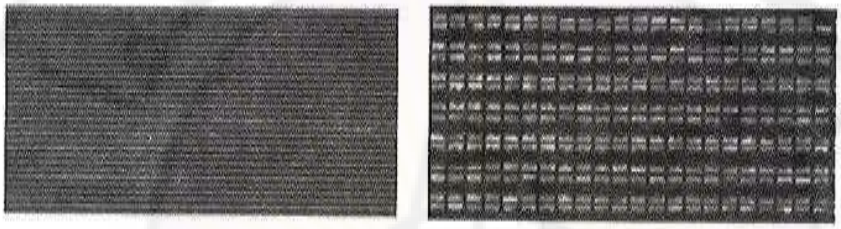
تمكّن العلماء في جامعة سان دييغو بالولايات المتحدة الأميركية من الحصول على ضوء حيوي عند تجميع ملايين الخلايا الجرثومية، بمعالجة الساعة الحيوية لها اعتماداً على البروتين المتألق، بتصنيع شرائح سائلة صغرية Microfluidic chips (الشكل 8-12)، وهي من أجهزة الاستشعار الحية التي تعمل بتجميع مستعمرات الجراثيم المختلفة التي تتأثر فيما بينها وتحرّض على التوهج في الوقت نفسه من خلال إطلاق غاز ينتشر بينها.

أما المسألة المهمة فهي ابتكار تصاميم لأجهزة استشعارية حيوية قادرة على استكشاف مجموعة من الملوثات البيئية كالمعادن الثقيلة والأحياء الدقيقة الممرضة، وتبدو وسيلة منخفضة التكلفة لاستكشاف مجموعة من الملوثات المنتشرة في البيئة اعتماداً على حساسية الجراثيم، مثل استعمال شرائح لاستشعار وجود الزرنيخ السام في المواد عند انخفاض تواتر الذبذبات الناتجة عن الجراثيم المتألّقة.

يعتمد النموذج الأولي من الشرائح على عدد من المستعمرات الجرثومية لا تزيد على 500 مستعمرة، إذ أمكن تطوير طريقة، أساسها آلية التواصل بين آلاف الأفراد الجرثومية لإنتاج ومضات متقطعة بتوافق تام، أما النموذج المتطور فهو شرائح صغيرة الحجم لا تتجاوز عُشْر حجم رقاقة الشيبس تحتوي نحو 50 مليون خلية جرثومية متوهجة تصدر نحو 13000 "بيوبيكسل" بينما تحتوي أصغر شريحة نحو 2.5 مليون خلية جرثومية، وتصدر نحو 500 "بيكسل"، ويسعى العلماء إلى استعمال هذا الاختراع لاستكشاف وجود المواد السامة وتراكيزها في وقت قصير بوضع جهاز استشعار صغير في اليد لأخذ قراءات من ومضات الجراثيم.



الرقائق المائعة الدقيقة وفي داخلها المستعمرات الجرثومية.



النمط المتطور　　النمط الأولي

الشكل 8-12 الشرائح السائلة الصغرية Microfluidic chips وتطورها.

المجس الحيوي وسيلة تحليلية Analytical device يمكنها تحويل الاستجابة الحيوية إلى إشارة كهربائية، وغالباً ما يُستعمل المصطلح ليشمل وسائل استشعار تُستعمل لتحديد تركيز مادة وقياسات أخرى ومكونات في الاهتمام الحيوي حتى في الأماكن التي لا تستعمل أجهزة حيوية مباشرة، يُستعمل التعريف الأوسع في بعض المجلات العلمية، مثل: Biosensors، Elsevier Applied Science، فالمجسات الحيوية تمثل حقلاً يتوسع بسرعة حالياً، بدءاً من استشعار الغلوكوز إلى تحديد نوعية الأغذية إلى الرصد البيئي، وفي مجالات أخرى كالرعاية الصحية بتحديد العمليات الاستقلابية والأضداد وغيرها، ويعتمد ذلك على المعرفة في حقول عديدة، مثل: الكيمياء الحيوية، وعلم المفاعلات الحيوية، والكيمياء الفيزيائية، والكيمياء الكهربائية، والهندسة الكهربائية، والبرامج الإلكترونية.

يجب أن يمتلك المجس الحيوي الناجح على الأقل بعض الفوائد الآتية:

(1) أن يكون الحفاز الحيوي نوعياً جداً لغرض التحليل، ومستقراً في ظروف الخزن العادية، ويُظهر ثباتية جيدة على عدد كبير من الاختبارات (أكثر من 100 مرة).

(2) أن يكون التفاعل مستقلاً عن المعايير الفيزيائية كناشط، وسهل التعامل في موضوع الرقم الهدروجيني ودرجة الحرارة؛ مما يسمح بتحليل عينات بمعالجة أولية دنيا، وإذا تضمن التفاعل عوامل مساعدة أو مرافقات إنزيمية، يكون من الأفضل أيضاً أن تكون مقترنة مع الإنزيمات.

(3) أن تكون الاستجابة دقيقة ومضبوطة، ويمكن تطبيقها باستمرار في المجال التحليلي المفيد من دون تخفيف أو تمديد، ويجب أن تكون خالية من الضجيج الكهربائي.

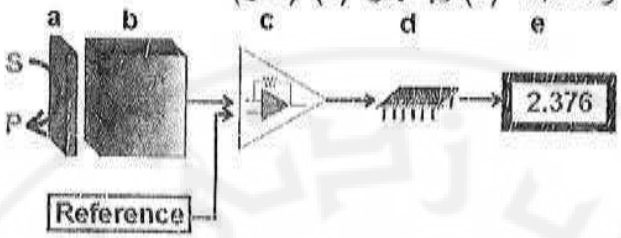
(4) أن يكون المجس صغيراً جداً ومتناغماً حيوياً، من دون أن يترك تأثيراً ساماً أو مولداً للضد عند استعمال المجس الحيوي في الحالات السريرية كوسيلة باضِعة Invasive mean، وأن يكون معقماً، ولكن لا تقاوم الإنزيمات التعقيم إذا كان مستعملاً في المخمرات، وألا يكون المجس الحيوي عرضة للتلوث أو التحلل البروتيني.

(5) أن يكون المجس الحيوي المنجز رخيصاً، وصغيراً، وقابلاً للحمل وكفوءاً لأن يستعمله فنيون شبه مؤهلين.

(6) أن يوجد متجر لتسويق المجس الحيوي، وإن كان تطوير المجس الحيوي صعباً في حال استعمال الطرائق التقليدية وإعاقة لامركزية الاختبارات.

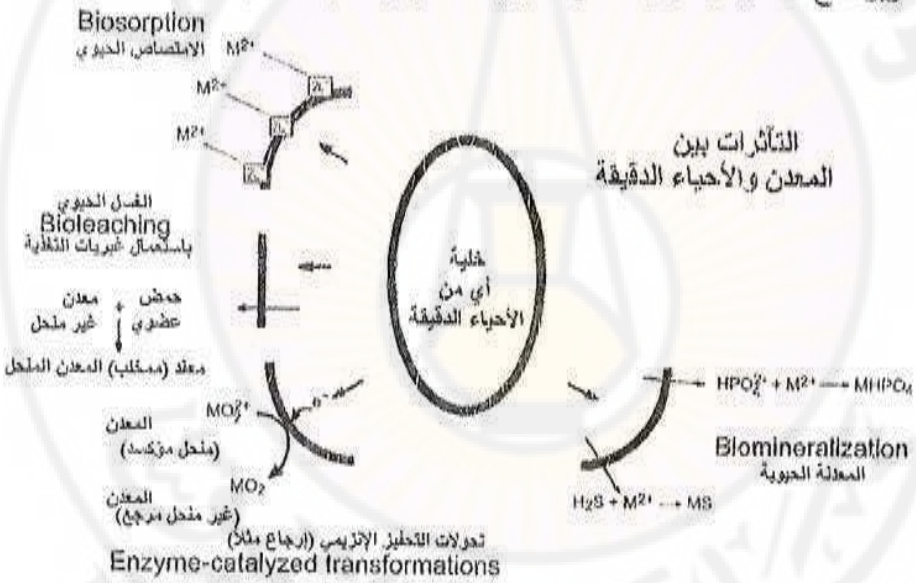
تُحدد الاستجابة الحيوية للمجس الحيوي بوساطة غشاء تحفيز حيوي يُنجز تحويل المادة المتفاعلة إلى المنتَج، ويمكن توضيح مكونات المجس الحيوي بالشكل 8-13.

يحول الحفاز الحيوي (a) الركازة Substrate إلى منتَج. يُحدد التفاعل بوساطة ترجام (ج: تراجيم) Transducer (b) الذي يحوله إلى إشارة كهربائية، فيعمل على تضخيمه (c)، ومعالجته (d) وإظهاره (e) (نشره).



الشكل 8-13 المكونات الأساسية للمجس الحيوي **Biosensor**.

ويوضح الشكل 8-14 التآثرات بين المعدن والأحياء الدقيقة.



الشكل 8-14 آلية التآثرات بين المعدن وأي من الأحياء الدقيقة المستعملة في المعالجة الحيوية للملوثات [Lioyd, 2002].

وهناك أجيال للمجسات الحيوية، وكذلك لها وظائف متباينة، كالآتي:

- المجسات الحيوية الكالورية (المِسْعَرية) Calorimetric biosensors التي ترصد تغيرات درجة الحرارة في مورد العينة، ويمكن استعمال الإنزيمات لتحديد مفاعلات الغلوكوز والكولسترول والنشاء والإسترات وغيرها.

- المجسات الحيوية الكمونية Potentiometric biosensors التي تُترجم التفاعل الحيوي إلى إشارة كهربائية اعتماداً على إلكترودات الاصطفاء- الأيوني ion-selective electrodes، ورصد تغيرات الرقم الهدروجيني، ومنها: إلكترودات زجاجية للأيونات، وإلكترودات pH الزجاجية Glass pH electrodes، وإلكترودات الطور الصلب Solid-state electrodes.
- المجسات الحيوية الأمبيرية Amperometric biosensors التي تعمل بوساطة خلق تيار عند تطبيق الكمون بين إلكترودين.
- المجسات الحيوية البصرية Optical biosensors التي تفيد في تحديد تغيرات الامتصاص الضوئي بين المفاعلات والمنتجات في التفاعل، أو قياس الضوء في المخرج بالعملية اللامعة Luminescent process.
- المجسات الكهر - ضغطية Piezo-electric biosensors (مثل الكوارتز) التي تنوس تحت تأثير الحقل الكهربائي.
- المجسات المناعية Immunosensors التي تفيد في مقاسيات الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم / الإليزا Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA)، فالإليزا تُستعمل لتحري وتضخيم تفاعل المستضد - الضد Antigen-antibody reaction.

أخيراً، من المؤكد أن التطبيقات في مجالات التنمية وصون البيئة مسائل لم تعد حلماً، فهناك أنواع من الأحياء الدقيقة كالجراثيم والأعفان والخمائر والطحالب الدقيقة قادرة، في ظروف صنعية وحقلية، على إنتاج المواد الدوائية والصناعية، وحل مشكلات كاستخراج المعادن من خاماتها الفقيرة، وإزالة السمية في البيئات الملوثة، إلى جانب استعمال مواد رخيصة جداً

"توجد الأحياء الدقيقة في جميع بقاع الأرض، ومن قمم الجبال حتى أعماق البحار، وهي تقوم بمعالجة المواد منذ 3.5 بلايين سنة"

أولسون Gregory J. Olson

من معهد المعايير الوطنية الأمريكي

ومتوافرة، وبكلفة قليلة، ويزداد مردودها وتتوسع مجالاتها مع التقدم التقني والعلمي والاكتشافات.

يكمن الإبداع الحقيقي في إيجاد الأحياء الدقيقة المفيدة في المجالات التطبيقية المتباينة، وتوصيف العمليات التي تقوم بها، وبفعلها، وبتحويل المواد الأولية، وإيجاد الطرائق لتطوير هذه العمليات.

وليس من الضروري العثور دوماً على أحياء دقيقة موجودة في البيئة لها قدرة مذهلة على حل مشكلة ما أو إنتاج مادة مرغوب فيها، ففي الواقع، أمكن بسهولة على نحو مدهش، تكوين مزارع جديدة للجراثيم قادرة على تجميع الفلزات السامة أو الثمينة، بتحديد مورثاتها وتحويرها، أو بإدخال مورثات معينة في أحياء لم يخطر على البال سابقاً أن تكون وسيلة لحل أو لإنتاج.

أسئلة للمناقشة



- ما أهمية الأحياء الدقيقة في استخراج المعادن الثمينة من خاماتها؟.
- أوضح بالرسم فقط عملية امتزاز العناصر الثقيلة بوساطة الأحياء الدقيقة.
- هناك اهتراء للكتب والجلود والزجاج بسبب: ....
- يمكن تفكيك السليلوز بفعل الأحياء الدقيقة، اذكر نوعين من كل مجموعة.
- قارن بين التراكم الحيوي والتضخم الحيوي.
- عدد أربعةً من أهم تطبيقات المجسات الحيوية.
- ما دور الجراثيم في عملية الغسل الحيوي؟.

المراجع References

- **دركزنللي، كنان (2002).** استخدام الجراثيم المهندسة وراثياً للكشف عن الملوثات البيئية من مطفرات ومسرطنات، ندوة الأمان الحيوي، دمشق، هيئة الطاقة الذرية، دمشق، 13 – 15 / 5 / 2002.
- **علي نظام، عدنان (2009).** العوالق النباتية، منشورات كلية العلوم بجامعة دمشق.
- **علي نظام، عدنان – عايد، هنادي (2011).** استعمال الكتلة الحيوية الليغنوسليلوزية لإنتاج الإيتانول الحيوي بالتخمر، الندوة العلمية: طاقة الكتلة الحيوية في سورية: الواقع والآفاق المستقبلية، كلية الهندسة الميكانيكية والكهربائية 22-23 /10/ 2011.
- **علي نظام، عدنان – باذنجانه، رغد (2012).** تأثير المعادن الثقيلة في نمو خميرة الخبز وإنتاجها للسليلاز. مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الأساسية، العدد 80.
- **ماركس جين، ل. Jean L. Matrx (2009).** ثورة في التكنولوجيا الحيوية. ترجمة هاشم أحمد محمد، مراجعة إبراهيم عبد المقصود إبراهيم، مكتبة الأسرة 2009، الهيئة المصرية العامة للكتاب، القاهرة.
- **مجلة العلوم الأمريكية (1988).** استعمال الأحياء المجهرية في معالجة التلوث، إنها مهنة قذرة !It's a Dirty Jop، مج 5 العدد 6، 155.
- **Adeniji A., (2004).** Bioremediation of Arsenic, Chromium, Lead, and Mercury. National Network of Environmental Management Studies Fellow for U.S. Environmental Protection Agency Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation Office Washington, DC.

- **Ahalya N., Ramachandra T., Kanamadi R., (2003).** Biosorption of heavy metals, Journal of Chemistry and Environment, 7(4): 71-79.
- **Aksu Z., Sag Y., Kutsal T., (1992).** The biosorption of copper (II) by *C. vulgaris* and *Zramigera*. Environ Technol., 13: 579-586.
- **Arkipo G. , Kja M. , Ogbonnaya L., (2004).** Cd uptake by the green alga *Chlorella emersonii*. Global J. pure appl. Sci. 10:257-262.
- **Bachar H., Margaritis A., Berutti F., Maurice B., (2003).** Kinetics and Equilibrium of cadmium biosorption by yeast cell *S. cerevisiae* and *K. fragilis*, Int. J. Chem. Reactor. Eng. 1:1-16.
- **Barros L., Macedo G., Duarte M., Silva E., Lobato A., (2003).** Biosorption of Cd using the fungus A. niger. Braz J. Chem. Eng. 20: 229-239.
- **Bhainsa K., D'Souza S., (1999).** Biosorption of uranium (VI) by Aspergillus fumigatus. Biotechnol. Tech. 13: 695-699.
- **Brennan T., (1996).** "Is Cost-of-Service Regulation Worth The Cost?" International Journal of the Economics of Business, 3, pp. 25-42.
- **Brinza L., M., Dring, et al., (2007).** "Marine micro and macro algal species as biosorbents for heavy metals." Environmental Engineering and Management Journal 6(3): 237-251.
- **Case L., (2010).** Microbiology an Introduction. Tortora, Franke, Case, tenth education. Chapter 28. Applied and Industrial Microbiology.
- **Chen F., Johns MR. (1991).** Effect of C/N ratio and aeration on the fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana*. Appl. Phycol. 3:203–9.
- **Chen C., Wang J., (2007).** Characteristics of Zn2+ Biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*. Laboratory of Environmental

Technology, INET, Tsinghua University, Beijing 100084, China.

- **Churchill S., Walters J., Churchill P., (1995).** Sorption of heavy metals by prepared bacterial cell surfaces. J. Environ. Eng. 121: 706-711.
- **Costa A., Mesquita L., Tosovsky J., (1996).** Minerals Engineering. 9, 811-824.
- **Craggs R., Adey W. H. *et al.*, (1996).** "A controlled stream mesocosm for tertiary treatment of sewage." Ecological Engineering 6(1-3): 149-169.
- **Craggs R., (2000).** Wastewater treatment by algal turf scrubbing. 7th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control 2000, Lake Buena Vista, Florida, I W a Publishing.
- **Craggs R., Sukias J., P. *et al.*, (2004).** "Advanced pond system for dairy-farm effluent treatment." New Zealand Journal of Agricultural Research 47(4): 449-460.
- **El Sikaily, A., A. Khaled, *et al.*, (2006).** "Removal of Methylene Blue from aqueous solution by marine green alga Ulva lactuca." Chemistry and Ecology 22(2): 149-157.
- **Ercole C., Veglio F., Toro L., Ficara G., Lepidi A., (1994).** Immobilisation of microbial cells for metal adsorption and desorption. In: Mineral Bioprocessing II. Snowboard. Utah.
- **Gadd G., Rome L., (1988).** Biosorption of copper by fungal melanin. Appi. Microbial. Biotechnol., 29, 6 1 O-6 17.
- **Giller K., Witter E., McGrath S., (1998).** Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review, Soil Biology and Biochemistry, 30, 1389-1414.
- **Groundev S., (1987).** Use of heterotrophic microorganisms in mineral biotechnology, Acta Biotechnol. 4, 299-306.
- **Gupta V., Shrivastava A. K., *et al.*, (2001).** "Biosorption of chromium(VI) from aqueous solutions by green algae Spirogyra species." Water Research 35(17): 4079-4085.

- **Haluk C., Ulki Y., (2001).** Biosorption of Ni(II) and Pb(II) by Phanerochaete chrysosporium from a binary metal system kinetics. Water SA. 27: 15-20.
- **Hodaifa G., M. E. Martinez, *et al.*, (2008).** "Use of industrial wastewater from olive-oil extraction for biomass production of *Scenedesmus obliquus*." Bioresource Technology 99(5): 1111-1117.
- **Hoffman R., Wood, T., (1985).** Isolation and partial characterization of a natural Penicillium for the saccharification of straw. Biotechnol. Bioeng. 27: 81-85.
- **Holleman A., Wiberg E., Wiberg N., (2007).** "Lehrbuch der anorganischen Chemie" 102 Auflage, Walter de Gruyter, Berlin-NewYork, seite 995.
- **Hsu *et al.*, (1980).** International energy agency, gaps in the research of second generation transportation.
- **Joseph V., Joseph A., (2001).** "Algae in the assessment of industrial wastewater holding ponds - A case study of an oil refinery." Water Air and Soil Pollution 132(3-4): 251-261.
- **Kar R., Sahoo B., Sukla C., (1992).** Removal of heavy metals from pure water using sulphate-reducing bacteria. (SRB), Pollut. Res., 11: 1- 13.
- **Kanosh A., Essant S., Zeinat A., (1999).** Biodegradation and utilization of bagasse with Trichoderma ressei. Polym. Degrade. Stab. 62: 273-276.
- **Kazuhisa, Miyamoto (1997).** Renewable biological system for alternative sustainable Energy production (FAO-Agricultural Services Bulletin, 128, Osaka University, Osaka, Japan.
- **Kuyucak N., Volesky B., (1998).** Biosorbent for Gold. US. Patent 4,- 769,233.
- **La Biodépollution (1996).** Nouvelles Scientifiques – Juillet, 1996; Source: AFP Sciences.

- **Lioyd J., (2002).** Bioremediation of metals: The application of microorganisms that make and break minerals, Microbiol. Today 29, 67-69.
- **Lo W., Chua H., Lam K., Bi S., (1999).** A comparative investigation on the biosorption of lead by filamentous fungal biomass. Chemosphere 39: 2723-2736.
- **Loderro P., Cordero B., Grille Z., Herrero R., Sastre de Vicente M., (2004).** Physicochemical studies of Cd(II). Biosorption by the invasive algae in Europe, Sargassum muticum. Biotechnol. Bioeng. 88: 237-247.
- **Machado M., Janssens S., Soares H., Soares E., (2009).** Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *S. cerevisiae*: advantages of using dead biomass .J of Appl. Microbiol., 106 (6) : 1792-1804(13).
- **Madrid Y., Cabrera C., Perez-Corona T., camara C., (1995).** Speciation of methyl mercury and Hg(II) using baker's yeast biomass (Saccharomyces cerevisiae). Determination by continuous flow mercury cold vapor generation atomic absorption spectrometry. Anal. Chem. 67: 750-754.
- **Mahore N., Rahatgaonkar A., (2008).** A Selective Bioreduction of Toxic Heavy Metal Ions from Aquatic Environment by *Saccharomyces cerevisiae.* Department of Chemistry, Institute of Science, R. T. Road, Civil lines, Nagpur, India.
- **Mandels M., Reese E., (1985).** Fungal cellulose and microbial decomposition of cellulosic fibers. Dev. Ind. Microbial. 5: 5-20.
- **Mangelli P., Forchiassin F., (1999).** Regulation of the cellulose complex production by *Saccobolus saccaboloides*, introduction and repression by carbohydrates. Mycological. 91(2): 359-364.
- **Muraleedharan T., Lyengar L., Venkobachar C., (1991).** Biosorption: an attractive alternative for metal removal and recovery. Curr. Sci. 61. 61: 379-385.

- Nakajima H., Hirata A., Ogawa T., Yonehara K., Yoda M., (1991). A cytoskeleton-related gene, uso1, is required for intracellular protein transport in *Saccharomyces cerevisiae*. J. Cell Biol. 113:245–260 pmid:2010462.
- Nakamura K., Kppamura K., (1982). Isolation and identification of crystalline cellulose hydrolyzing bacterium and its enzymatic properties. J. Ferment. Techno. 60(4): 343-348.
- Niu H., Volesky B., (1999). Characteristics of Au biosorption from cyanide solution. J. Chem. Tech. Biotechnol. Bioeng. 35: 320-325.
- Norman N., Earnshaw A., (1997). Chemistry of the Elements (2nd ed.), Oxford: Butterworth-Heinemann.
- Ojumu T., Solomon V., Bamidele O., Betiku E., Layokun S., Amigum B., (2003). Cellulose Production by *Aspergillus flavus* Linn. Isolates NSPR 101 fermented in sawdust, bagasse and Corncob. African. J. Biotechnol. 2(6): 150-152.
- Okafor N., (2007). Modern industrial Microbiology and Biotechnology. Clemson University, Clemson South Carolina USA. Science Publishers.
- Park D., Yeoung-Sang Y., Jong M., (2005). Studies on hexavalent chromium biosorption by chemically-treated biomass of Ecklonia sp. Chemosphere 60: 1356-1364.
- Philip L., Venkobachr C., (2001). An insight into mechanism of biosorption of Cu by B. polymyxa. Indian J. Environ. Pollut. 15: 448-460.
- Rose, P., Boshoff, G., *et al.*, (1998). An integrated algal sulphate reducing high rate ponding process for the treatment of acid mine drainage wastewaters. International Summer
- Ruchi G., Saxena R., Rani G., (2003). Fermentation waste of Aspergillus terreus: A promising copper bioindicator. Process Biochem. 39: 1231-1235.
- Saddler J., (1986). Microbiol. Sci. 3, 84.

Semple T, Cain B, Schmidt S. (1999). Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. FEMS Microbiol. Lett. 170: 291–300.

- Shin C., Lee J., Lee I., Park S., (2000). Enzyme production of *Trichoderma reesei.* Rut C-30 on various lignocellulosic substrates. Appl. Biochem. Biotech. 84-86(1-9): 237-245.
- Slampova A., Smela D., Vondrackova A., Jancarova I., Kuban V., (2001). "Determination of synthetic colorants in foodstuffs", Chemicke Listy.,95, pp 163168.
- Solomon B., Layokun S., Nwesigwe P., Olutiolo P., (1990). Hydrolysis of saw dust by Cellulase enzyme derived from Aspergillus flavus Linn. Isolates NSPR 101 beyond the initial Fast rate period. JNSCHE. 9:1-2.
- Solomon B., Amigum B., Betikue T., Ojumu T., Layokun S., (1999). Optimization of Cellulase production by *Aspergillus flavus* Linn. Isolates NSPR 101 grown on bagasse. JNSCHE. 18: 61-68.
- Srinath T., Garg S., Ramteke P., (2003). Biosorption and ellusion of Cr from immobilized *Bacillus coagulens* biomass. Indian J. Exp. Biol. 41: 986-990.
- Sung W., Juan M., In-Seob K., Sathishkumar M., Yeoung-Sang Y., (2010). Platinum recovery from ICP wastewater by a combined method of biosorption and incineration Division of Environmental and Chemical Engineering and Research Institute of Industrial Technology, Chonbuk National University, Jeonbuk 561-756, Republic of Korea.
- Thakur I., (2006). Pollutants and their degradation-methane, benzene, pesticides, bioabsorption of metals School of Environmental Sciences. Jawaharlal Nehru University New Delhi-110 067.
- Vijayaraghavan K., Joseph R., Kandaswamy P., (2004). Copper removal from aqueous solution by marine alga Ulva reticulate. Electronic J. Biotechnol. 7: 61-71.
- Vijayaraghavan K., (2008). "Biosorption of nickel from synthetic and electroplating industrial solutions using a

green marine Algae Ulva reticulata." Clean-Soil Air Water 36(3): 299- 305.

- **Volesky B., (1986).** Biosorbent materials. Biotechnology and Bioengineering. vol. 16, p. 121-125.
- **Volesky, B., Holan, Z. R., (1995).** Biosorption of heavy metals. Biotechnol. Prog. 11: 235-250.
- **Volesky B., May-Phillips H., (1995).** Biosorption of Heavy Metals by *Saccharomyces cerevisiae.* J. Applied Microbiol. Biotechnology. 42: 797-806.
- **Wainwright M., (1992).** An Introduction to fungal biotechnology, Jhon Wiley & Sons Ltd. England.
- **Weon B., Cindy H., Wu J., Askok M., Wilfred C., (2003).** Enhanced Hg Biosorption by bacterial cells with surface-displayed MerR. Appl. Environ. Microbiol. 69: 3176-3180.
- **Yalcin, E., Cavusoglu, K., *et al.*, (2008).** "Biosorption of lead(II) and copper(II) metal ions on Cladophora glomerata (L.) kutz. (Chlorophyta) algae: Effect of algal surface modification." Acta Chimica Slovenica 55(1): 228-232.
- **Yeoung-Sang Y., Donghee P., Park J., Volesky B., (2001).** Biosorption of trivalent chromium on the seaweed biomass. Environ. Sci. Technol. 35: 4353-4358.
- **Wang L., Michiels C., Dawson C., Kitisakkul S., Baross A., Keasling D., Clark D., (1997).** Cadmium removal by a new strain of *Pseudomonas aeruginosa* in aerobic culture. Appl. Environ. Microbiol. 63(10) : 4075-4078.
- **Wang B., P. Qi, *et al.*, (2004).** Performance of an intensive pond system treating municipal wastewater in a cold region. 6th IWA international conference on waste stabilisation ponds, Avignon, France.
- **Wu Y., Yin S., Sheng G., Fu J. (1994).** New discoveries in study on hydrocarbons from thermal degradation of heterotrophically yellowing algae. Sci China (B) 37:326–35
- *academic.brooklyn.cuny.edu/ biology/bio4fv/pag...*
- *www.emc.maricopa.edu/.../ BIOBK/BioBookCHEM2.html*

المصطلحات

T e r m i n o l o g y

◄ A ►

absorption	الامتصاص
accumulation	التراكم
acetate	الخلات
acetic	.. الخل، الخلي
acetogenesis	توليد الخل
acetone	الأسيتون
acetone-butanol-ethanol ABE	الأسيتون والبوتانول والإيتانول
acid	الحمض، الحمضي
protease	البروتياز
acidogenesis	توليد الحمض
actinobacteria	الشّعّيات
actinomycetes	الشعيّات
active	..الفاعلية
activity	الفاعليّة، الفاعل
adaptation	التكيف
adaptive	التكيّفي، ..التكيف
addictions	الإدمانات

adsorption	الامتزاز
aerated	المهوّى
aeration	التهوية
aerobic	الهوائي
aerosols	الضَبُوبَات
aerotolerant	متحملّ للظروف الهوائية
agar	الأغار
agent	الوسيلة، المادة (المواد)
agitated	المهتز
agitation	الاهتزاز
air	الهواء
alcohols	الأغوال
algae	الطحالب
alginate	الألجينات
alkaline	القِلَوي
alkaloid	القِلَواني (القلويدات)
allergies	الأرَجيَّات
allochthonous	الدخيل
alternative	.. البديل
amino	الأميني
amperometric	الأمبيري
ampoules	الحُبابات
amylases	الأميلاز
anaerobic	اللاهوائي
analogs	النظائر
analysis	التحليل
analytical	التحليلي، ..التحليل

anatomy	التشريح
antibiotic	الصادة الحيوية
antibody	الضد (ج الأضداد)
antifoam	مانع الرغوة
antigen	المستضد
applications	التطبيقات
applied	التطبيقي
aquatic	..المياه، المائي
artificial	الصنعي
ascospores	الأبواغ الزقية
asepsis	التطهير
aspergillic acid	من الصادات الحيوية: حمض الأسبرجيليك
assay	المُقايسة
assurance	الضمان
authenticated	الموثق
autoclaving	التعقيم البخاري
autotrophs	ذاتيّات التغذية
auxotrophic	..التغذية الأكسينية
auxotrophy	التغذية الأكسينيّة

◄B►

bacilli	العُصيّات
bacitracin	الباسيتراسين من الصادات الحيوية
bacteria	الجراثيم
bacteriophages (phages)	عاثيات الجراثيم
baker's yeast	خميرة الخبز
base	الأساس
basic	الأساسي

basidiospores	الأبواغ الدعامية
batch	الدفعة الواحدة
beer	الجِعَة (البيرة)
benthic	القاعي
bioaccumulation	التراكم الحيوي
bioactive	الفعّال حيوياً
bioactivity	الفاعلية الحيوية
biocatalysts	الحفازات الحيوية
biochemical	الحيوي الكيميائي
biochemistry	الكيمياء الحيوية
biocides	المبيدات الحيوية
bioconversion	التحويل الحيوي
biodiesel	الديزل الحيوي
biodiscs	الأقراص الحيوية
bioethanol	الإيثانول الحيوي
biofertilizers	الأسمدة الحيوية
biofuel	الوقود الحيوي
biogas	الغاز الحيوي
biogasoline	البنزين الحيوي
biohydrogen	الهدروجين الحيوي
bioleaching	الغسل الحيوي
biological	الحيوي
biology	علم الحياة
biomagnification	التضخم الحيوي
biomass	الكتلة الحيوية
biomethanol	الميثانول الحيوي
biomining	التعدين الحيوي

bioprocesses	العمليات الحيوية
bioreactors	المفاعلات الحيوية
bioremediation	المعالجة الحيوية للمخلفات
biosensors	المجسّات الحيوية
biosorption	الامتزاز الحيوي
biosphere	المحيط الحيوي
biotech bugs	الجراثيم المحورة وراثياً
biotechnology	التقانات الحيوية
biotin	البيوتين
black mold	العفن الأسود
blocked	المُحْصَر
blood	الدم
branches	الفروع الأولية
breeding	التربية
brown algae	الطحالب السمراء
butanol	البوتانول

◄C►

calcium sulphide	كبريت الكلسيوم
calorimetric	الكالوري (المِسْعري)
capsule	المحفظة
carbohydrates	السكريات
carbon-neutral	متعادل كربونياً
carotenes	الكارُوتينات
carotenoids	الكاروتينويدات
catalases	الكتلاز
catalysis	التَحْفيز
cell	الخلية، الخلوي، الخلايا

cell count	عدد الخلايا
cell mass	الكتلة الخلوية
cellulase	السليلاز
cellulose	السليلوز
centrifugation	التثفيل
cephalosporin	السيفالوسبورينات من الصادات الحيوية
change	التغيّر
characteristics	الخصائص
chemicals	المركبات الكيميائية (المواد ك)
chemoautolithotrophic	ذاتيّ التغذية المعدنيّة الكيميائيّة
chemoheteroorganotrophic	غيريّ التغذية العضويّة الكيميائيّة
chemostat	المنظم الكيميائي
chitosan	الكيتوزان
chloramphenicol	الكلورامفينكول من الصادات الحيوية
chlorophylls	اليخضور
chloroplasts	الصانعات الخضراء
cholera	الهيضة (الكوليرا)
choose	الاختيار
chromatographic	الكروماتوغرافي
chromatography	الكروماتوغرافيا
circular	الحلقي، الدائري
citric	الستريك (الليمون)
citronellol	السيترونلّول
classification	التصنيف
cloning	التنسيل
clone	النُسيلة
closed	المغلق

conidia	الأبواغ الكونيدية، الكونيدات
conidiophores	حوامل الأبواغ الكونيدية
conidiospores	الأبواغ الكونيدية
conjugation	الاقتران
conservation	الصون
conserved	المصان
constitutive	التكوين
contact	التماسّ
continuous	المستمر
control	المكافحة، التحكم في
corn	الذُرة
coryneforms	الوتديات
covalent	التساهمي
criteria	المعايير
cross-linking	التصالبي
crude	الخام
cryopreservation	الحفظ القرّي (بالبرودة)
cryoprotective	المجمّد
cultivation	الاستزراع
culture	المزرعة
curdlan	الكوردلان
curve	المنحنى
cyanobacteria	الجراثيم الزرقاء
cycle	الدورة
cyclosporine	السيكلوسبورين من الصادات الحيوية
cytokines	السيتوكينات
cytology	علم الخلية

◄D►

data	البيانات
death	الموت
decline	التراجع والانحطاط
deep freeze	التجميد العميق
dehydration	التجفيف (نزع الماء، البلمهة)
deletion	الحذوف
denaturation	التمسخ
density	الكثافة
design	التصميم
desirable traits	الميزة المرغوب فيها
detoxification	إزالة السُمّيّة
deuteromycetes	الفطريات الناقصة
dextran	الدكستران
diatoms	المشطورات
digestion	الهضم
digester	الهاضم
diffusion	الانتشار، بالانتشار
dilution rate	معدل التخفيف
disinfection	التطهير
distillation	التقطير
distribution	التوزّع
disturbances	الاضطرابات
diversity	التنوع
dormancy	السبات
dual	المزدوج
duplication	التضاعُف، التضاعفي

◄E►

eclipse	الكسوف
ecology	البيئة
ecosystems	النظم البيئية
electrodes	إلكترودات
elements	العناصر
elicitors	المُحفّزات
encapsulation	التغليف (التمحفظ)
endoenzymes	الإنزيمات الداخليّة
endogenic	..الداخلي
endospores	الأبواغ الداخلية
energy	الطاقة
energy crops	محاصيل الطاقة
enhancers	المحسّنات
entrapment	الاقتناص
environment	البيئة
environmental	البيئي
enzymatic	بالإنزيمات، الإنزيمي
enzyme	الإنزيم، الإنزيمي
episomes	الإبيسومات
ergosterol	الإرغوسترول
erythromycin	الإريترومبيسين من الصادات الحيوية
esterification	الأسترة
esterol ester	إستر الإسترول
ethanol	الإيتانول
euglenoids	الطحالب اليوغلينية
evaporation	التبخير

eukaryotes	حقيقيات النواة
exchange	التبادل
exobiology	علم الحياة الخارجية
exoenzymes	الإنزيمات الخارجيّة
exogenic phages	العاثيات الخارجية
exponential	الأسي
extracellular	خارج الخلوي
extract	المستخلص
extraction	الاستخلاص

◄F►

factories	المصانع
factors	العوامل
facultative	المخيّر، الاختياري
fastidious	صعب الإرضاء، شديد الحساسية
fats	الدُسم
fatty	الدُسِم
fed	المغذاة
fermentation	التخمر
fermentative	التخمري
fermenter	المخمر
filtration	الترشيح
finger print	البصمة الوراثية
flagella	السياط
flavonoids	الفلافونيدات
flavor	النكهة
fluidized	السائل

fluorometry	مقياسية الفلورة (بالتألّق)
foam	الرغوة
foaming	الإرغاء
food	الأغذية
formate	الفورمات
frame shift	تغيير الحوادث (الإطار)
free	الحرّ
freeze-drying	التجفيد
frozen	المجمّد
fumaric	الفوماريك
functional	الوظيفي
fungi imperfecti	الفطريات الناقصة
fungi	الفطريات
fusidic acid	من الصادات الحيوية

◄G►

gas	الغاز، الغازي
gel	الهلام، الهلامي، بالهلام
generation	الجيل، النشوء
genes	المورثات
genetics	علم الوراثة، الوراثة
genotoxicity	السمية الوراثية
genotype	النمط الوراثي
geraniol	الجرانيول
gibberellins	الجبرلينات
global	الشامل، العالمي
glucoamylase	الغلوكوأميلاز
gluconic	الغلوكونيك

glycerol	الغلسيرين
golden	الذهبي
gravimetric	... الثقل النوعي (الثقالي)
gravity	الثقل، الجاذبية
green	الأخضر، الخضراء
growth	النمو

H

habitats	الموائل
heat	الحرارة
hemicellulase	الهميسليلاز
heterosaccharide	السكر غير المتجانس
heterotrophs	غيريّات التغذية
homosaccharide	السكر المتجانس
horizontal	الأفقي
hormones	الهرمونات
hydrocarbons	الهدروكربونات (الفحوم الهدروجينية)
hydrolysis	الحَلْمَهة
hyphae	الخيوط الفطرية

I

idiolits	المستقلبات الثانوية (مستعمل أحياناً)
immobilization	الاستيقاف
immunology	علم المناعة
immunosensors	المجسات المناعية
immunosuppressants	المثبطات المناعية
improving	التحسين
incompatible	غير المتوافق

inducers	المحرّضات
inducible	المحرّض
induction	التحريض، الحَث
industrial	الصناعي
inert	الخامل
inhibitors	المثبّطات
initial	الأصلي، الأولي
inoculum	اللَقح
insects	الحشرات
inserted	المُقحم، المغروز
insertion	الغرْز، الإقحام
insulin	إنسولين
interact	تتأثر
interferon	الإنترفيرون
interleukins	الإنترلوكينات
intracellular	داخل الخلوي
invasive	الباضع
inversion	العكس
invertase	الإنفرتاز
ion	أيون، ... الأيوني
ionic exchange	التبادل الأيوني
irradiation	التشعيع
isolates	العزلات
isolation	العزْل

◀K▶

kinetics	الحركية

◄L►

lactate	اللاكتات
lactic	اللبني، ... اللبن
lactinase	اللاكتيناز
lactones	اللاكتونات
lag	... الركود
latent	الكمون
lethal	القاتل
ligase	الليغاز
ligninase	الليغنيناز
lignocellulosic	الليغنوسليلوزي
limited	المحدود
linalool	الليناليول
linear	الخطي
linoleic	اللينولئيك
linolenic	اللينولنيك
lipases	الليباز
lipids	الشحوم
liquid	السائل
lithotrophic	... معدنيّ التغذية
lithtrophy	التغذية المعدنيّة
localized	المُوضّع، الموضعي، المتوضّع
log	الانفجار
logarithmic	اللوغاريتمي
luminescent	اللامع، متلألئ
lyophilization	التجفيد
lytic	التحلّلي، .. التحلل، المحلّل

macromolecules	الجزيئات الكبيرة
malt	المُلت
manipulated	المُعَدَّل
manure	السماد
marginal lands	الأراضي الهامشية
markers	الواسمات
mass growing	التنمية الكثيفة
mat	الحَشِيّة
materials	المواد
measurements	القياسات، المقاييس
media	الأوساط
medical	الطبي
melibiase	الملبياز
membrane	الغشاء
menthol	المنتول
mesophilic	أليف للاعتدال
metabolic	الاستقلابي
metabolically	استقلابياً
metabolism	الاستقلاب
metabolites	المستقلبات
methane	الميتان
methanogenesis	توليد الميتان
methods	طرائق
metulae	الفروع الثانوية
microaerophilic	أليف قلة الأكسجين
microbial	الأحياء الدقيقة

microbiological	الميكروبيولوجي
microbiology	علم الأحياء الدقيقة، الميكروبيولوجيا
microelements	العناصر الصغرى
microfluidic chips	الشرائح السائلة الصّغرية
microorganisms	الأحياء الدقيقة
mineralization	المعدنة
minerals	المعادن
miniature	المنمنم
missense	خاطئ المعنى
modified	المحوّر
modifiers	المعدّلات (المحوّرات)
molasses	المولاس
molds	الأعفان
molecular	الجزيئي
monoclonal	أحادي النُّسيلة
monoglycerides	الغليسريد الأحادي
monosaccharides	أحاديات السكر
mucopolysaccharides	عديدات السكر المخاطية
multiple	العديد
multi-site	عديد الموقع
multistage	عديد الأطوار
mutagens	المطفرات
mutant	الطافر
mutation	الطفرة
mutative	التطفّر
mycelium	الأُفطورة (المسليوم)
myxotrophs	مختلطات التغذية

◀N▶

natural	الطبيعي
negative	السلبي
needs	الاحتياجات
neutral	المتعادل، المحايد
no-coding	غير المرمّز (المشفّر)
non-sense	عديم المعنى
non-sulfur	اللاكبريتي
nontransposable	غير النقّال
nucleic	النووي
nucleotides	النّوويدات، النُكليوتيدات
nutritional	الغذائي

◀O▶

objective	الغرضي، الغرض
oleaginous	الزيتي
oligosaccharides	قليلات السكر
one-stepped	وحيد الخطوة
oospores	الأبواغ البيضية
optical density	الكثافة الضوئية
optical	البصري
ore	الخام
organelles	العُضيّات
organic	العضوي
organism	الكائن الحي (العضوية)
organotrophic	عضويّ التغذية
organs	الأعضاء
over production	الإفراط في الإنتاج

Damascus University

◄P►

packed	المحزوم
palmitic acid	حمض البالميتيك
parasite	طفيلي
partion	الفصل
parts	أقسام
paste	الطعم
pasteurization	البسترة
patents	براءات الاختراع
patulin	من الصادات الحيوية
pectinases	البكتيناز
pellets	الكُريّات
penicillin	البنسلين من الصادات الحيوية
peptones	الببتونات
period	المدّة
permeability	النفاذية
phages	العاثيات
phagolysis	التحلّل بالعاثيات
phases	الأطوار
phenotype	النمط الظاهري
phospholipids	الشحوم الفسفورية
photobioreactors	المفاعلات الحيوية الضوئية
photoheteroorganotrophic	غيريّة التغذية العضويّة الضوئيّة
photoheterotrophy	التغذية الغيريّة الضوئيّة
photolithotrophic	ضوئيّ التغذية المعدنية
photosynthesis	التركيب الضوئي
phototrophy	التغذية الضوئيّة

phycobilin	البروتينات الصفراوية
phylogenetic	..التطوّري السلالي
physical	الفيزيائي
physiologic	الفيزيولوجي
physiology	الفيزيولوجيا
phytoene	الفيتوين
phytoplankton	العوالق النباتية
piezo-electric	الكهر – ضغطي
pigments	الصباغ
pipe	الأنبوب
plant powder	المسحوق النباتي
plasmids	البلاسميدات
plate count	العدّ بالأطباق
point	النُقطي، النقطة
polar	القطبي
polarimetric	القياس بالاستقطاب الضوئي
polymyxin	البوليمكسين من الصادات الحيوية
polysaccharides	عديدات السكر
potentiometric	... الكموني
precipitation	الترسيب
preculture	المزرعة الأولية
precursor	السَلَف
primary	الأوليّ
processes	العمليات
produced	المنتَج
product	المنتج
production	الإنتاج

prokaryotic	بدائي النواة
promutagen	المطفرات الأولية
properties	الصفات
propionic	البروبيوني
protease	البروتياز
protein	البروتين
protozoans	الأوالي الحيوانية
psychopharmaceuticals	المركبات الصيدلانية النفسية
psychrotrophic	أليف القرّ
pullulan	البولولان
pure	النقي
purification	التنقية
purple	الأرجواني
putrefaction	تحلل البروتينات تحللاً تعفنياً
pyruvate	البيروفات

◄Q►

quality	الجودة
quantitative	الكمّي
quinones	الكينونات
quron	الكورون

◄R►

random screening	التحري العشوائي
rapid	السريع
rate	المعدل
raw	الخام
reactant	المادة المتفاعلة
reaction	التفاعل

recombinant	المؤشَّب، التأشيب
recombination	التأشيب
recovery	الاستعادة، الاسترداد
refractometric	القياس بانكسار الضوء
registration	التسجيل
regulator	المنظِّم
relationships	العلاقات
renewable	المتجدد
rennin	الأنفحة
requirements	الاحتياجات
resistant	المقاوم
response	الاستجابة
restriction	التقييد
reversion	الانعكاس
rhizoids	الجذيرات
riboflavin	الريبوفلافين
rotary	الدوّار..

◄S►

saccharogenic	السكري
safe	الأمن
same sense	المعنى نفسه
sampling	الاعتيان
scleroglucan	السيكلروغلوكان
scrape	الكشط، يكشط
secondary	الثانويّ
selection	الاصطفاء
selective	الاصطفائي

shake culture	المزرعة المهتزة
shake flask	الدورق الرجّاج
shaker	الرجّاج
sieving	الغربلة
signals	الإشارات
simple	البسيط
single	المفرد، الواحد
site	الموقع
size	الحجم
slants	المائل
slippage	الانزلاق
soil	التربة
solid	الصلب
solvents	المذيبات
sources	المصادر
space	الفضاء
specific	النوعي، الخاص
specify	..التحديد، يخصص
spectrophotometry	المطيافية الضوئية
spectrum	الطيف
spirals	اللولبيات
spirochetes	الملويات
splashing	رش السائل
spontaneous	.. التلقائي
sporangiospores	الأبواغ الكيسية
sporophores	حوامل الأبواغ
stability	الثباتية، الاستقرار

stabilization	التثبيت، الإقرار
stages	المراحل
starter	البادئ
state	الحالة
static	الساكن، المثبّط
stationary	الثابت، المستقر
steady	المستقر (الوطيد)
sterigma	الزوائد القارورية
sterilization	التعقيم
steroids	الستيرويدات
sterols	الستيرولات
stirred	المحرّك
stock	..الأصل (المخزون)
stolon	الرئد
stoneworts	الطحالب الكارية
storage	الخزن
strains	السلالات
streptomycin	الستربتوميسين من الصادات
strict	المُجبَر، الصارم
structural	البنيويّ
subcultures	تحت المزارع
substances	المواد، المركبات
substitution	الاستبدال
substrate	الركازة، الركيزة، المداد
sulfur	الكبريت
supplemental	الإضافي
surface	السطحي

surfactants	المواد الفعّالة سطحياً
suspension	المعلّق
symbiotic	المتعايش، التعايشي
synthesis	التركيب
synthetic	الصنعي

◄T►

target	الهدف
taste	الطعم
technology	التقانات (التقانة)
temperature	درجة حرارة
terpenes	التربنات
tetracycline	التتراسيكلين من الصادات الحيوية
therapy	المعالجة
thermophilic	أليف للحَرّ
tissues	النُسُج (للأحياء)، الأنسجة (للثياب)
tocopherols	التوكوفيرولات
toxicity	السُمّيّة
toxins	الذيفانات، السموم
transducer	التِرجام (التراجيم) = محوّل الطاقة
transduction	الاستنقال
transformation	الاستحالة
transition	العُبور
translational	...الترجمة
transport	النقل، الانتقال
transposable	النقّال
transposition	نقل الموضع
transversions	الانتقالات العكسية

treatment	المعالجة
triacylglycerols TAGs	ثلاثيات أسيل الغليسرين
triglycerides	الغليسريدات الثلاثية
tubular	الأنبوبي
turbidimetric	درجة التعكير
turbidity	العكارة
tyndalization	التعقيم المتقطع (التّندلة)
types	الأنماط

◄U►

ultrafiltration	الترشيح الفائق
unit	الوحدة

◄V►

vaccination	التلقيح
vaccines	اللقاحات
variation	الاختلاف، التباين
varieties	النويعات
vegetable	النباتي
vegetative	الإعاشي
vesicle	الحويصل
viability	قابلية النمو
viable count	العدد القابل للحياة
viable	الفعّال
viridin	الفيريدين من الصادات الحيوية
virions	الدقائق (في وصف الفيروسات)
virology	علم الفيروسات
virulence	الفوعة

viruses	الفيروسات
vitamins	الفيتامينات
volumetric	الحجمي

W

warfare	الحرب
wastes	المخلفات
water	الماء
wax ester	الإستر الشمعي
whey	الشرش
wild strain	السلالة البرية

X

xanthan	الزنتان
xanthophylls	الزانتوفيلات

Y

yeast	الخميرة
yield	الحصيلة

Z

zygospores	الأبواغ اللاقحية
zymase	الزيماز

Damascus University

قائمة الأحياء الدقيقة

- *Acetobacter:*
  - *A. acetigenum*
  - *A. orleanse*
  - *A. xylinoides*
- *Achromobacter*
- *Acidiphilium:*
  - *A. cryptum*
- *Actinomyces:*
  - *A. chrestomycetes var. aurantioideus*
  - *A. chrysomallus var. carotinoides*
  - *A. missouriensis*
- *Actinoplanes:*
  - *A. missouriensis*
- *Agrobacterium:*
  - *A. tumefaciens*
- *Alcaligens:*
  - *A. faecalis var. myxogenes*
- *Aleuria:*
  - *A. aurantia*
- *Alternaria*
- *Anabaena:*
  - *A. azollae*
  - *A. cylindrica*
  - *A. cylindrical*
  - *A. flose-aquae*
  - *A. variabilis*
- *Ankistrodesmus*
- *Aphanocapsa:*
  - *A. montana*
- *Armillaria*
- *Arthrobacter*
- *Ascophyllum sargassum*
- *Ashbya:*
  - *A. gossypii*
- *Aspergillus:*
  - *A. awamori*
  - *A. awamori var. kawachi*
  - *A. flavus*
  - *A. fumigatus*
  - *A. niger*
  - *A. oryzae*
  - *A. sojae*

A. terreus
A. wentii

- *Aurebasidium:*
  A. pullulans
- *Azotobacter:*
  A. vinelandii
- *Bacillus:*
  B. acidocaldarius
  B. amyloliquefaciens
  B. caldolyticus
  B. cereus
  B. coagulans
  B. firmus
  B. licheniformis
  B. megaterium
  B. mesentericus
  B. polymyxa
  B. pumilus
  B. stearothermophilus
  B. subtilis
  B. subtilis var. amylosaccharaticus
  B. thermoliquefaciens
  B. thermoproteolyticus
  B. thuringiensis
- *Bdellovibrio*
- *Beggiatoa*
- *Blakesla:*
  B. trispora
- *Borrelia*
- *Botryococcus:*
  B. braunii
- *Brevibacterium:*
  Br. ammoniagenes
- *Butyribacterium:*
  B. rettgerii
- *Calotrhix:*
  C. scopolorum
- *Candida:*
  C. famata
  C. guilliermondii
  C. parapsilosis
  C. pseudotropicalis
  C. tenuis
  C. tropcalis
  C. utilis
- *Cellovibrio*

- *Cellulomonas*
- *Cephalosporium*
- *Ceratium*
- *Ceratocystis*
- *Chaetoceros:*
  - *Ch. muelleri*
- *Chaetomium*
  - *Ch. globosum*
  - *Ch. thermophile*
- *Chiarella:*
  - *Ch. vulgaris*
- *Chlamydomonas:*
  - *Ch. reinhardtii*
- *Chlorella:*
  - *Ch. emersonii*
  - *Ch. minutissima*
  - *Ch. protothecoides*
  - *Ch. sorokiana*
  - *Ch. vulgaris*
- *Chloroflexus*
- *Citrobacter:*
  - *C. freundii*
- *Cladosporium:*
  - *C. resinae*
- *Claviformin*
- *Clavispora:*
  - *C. lusitaniae*
- *Closterium*
- *Clostridium:*
  - *Cl. acetobutylicum*
  - *Cl. aurantibutyricum*
  - *Cl. beijerinkii*
  - *Cl. butyricum*
  - *Cl. formicoaceticum*
  - *Cl. histolyticum*
  - *Cl. saccharoacetobutylicum*
  - *Cl. saccharoperbutylacetonium*
  - *Cl. thermoaceticum*
  - *Cl. thermocellum*
  - *Cl. thermohydrosulfuricum*
- *Coelatrum*
- *Coniophora puteana*
- *Corynebacterium:*
  - *C. ammoniagens*
  - *C. glutamicum*
- *Cryptococcus:*

C. terreus
C. terricolus

- *Cyclotella*
- *Cymbella*
- *Desulfovobrio*
- *Dunaliella:*
  - *D. bardawil*
  - *D. bioculata*
  - *D. salina*
  - *D. tertiolecta*
- *Ecklonia*
- *Enterobacter:*
  - *E. aerogenes*
- *Epicoccum*
- *Ermothecium:*
  - *E. ashbyii*
- *Erwinia*
- *Escherichia:*
  - *E. coli*
- *Euglena*
  - *E. gracilis*
- *Ezpansin*
- *Fibroporia:*
  - *F. vaillantii*
- *Flavobacteium:*
  - *F. ammonigenes*
- *Fusarium:*
  - *F. flocciferum*
  - *F. graminearum*
  - *F. moniliforme*
  - *F. roseum*
  - *F. solani*
- *Geotrichum*
- *Gibberella*
  - *G. fujikuroi*
- *Gloebacter*
- *Glomus:*
  - *G. epegaeus*
- *Haematococcus:*
  - *H. pluvialis*
- *Hansenula*
- *Hantzschia:*
  - *H. species*
- *Hensenula*
- *Hydrogenomonas*
- *Isochrysis:*

I. galbana

- *Klebsiella:*
  K. pneumoniae
- *Kluyveromyces:*
  Kl. fragilis
  Kl. lactis
  Kl. marxianus
- *Lactobacillus:*
  L. acidophilus
  L. bulgaricus
  L. lactis
  L. plantarum
- *Lentinula:*
  L. edodes
- *Leptospirillum:*
  L. ferooxidans
- *Leuconostoc:*
  L. dextranicum
  L. mesenteroides
- *Lipomyces:*
  L. lipofer
- *Lipomyces:*
  L. starkeyi
- *Lyngbya*
- *Megaterium*
- *Merothecium*
- *Methanococcus:*
  M. halophilus
- *Methanolomonas*
- *Methanosarcina:*
  M. barkeri
  M. vacuolata
- *Methylophilus:*
  M. metylotrophus
- *Micractinium*
- *Micrococcus*
- *Microcoleus:*
  M. chthonoplasts
- *Microcystis*
- *Micromonospora:*
  M. chalceae
  M. echinospora
  M. fusca
  M. halophitica
  M. puroureae
- *Monallantus:*

M. salina

- *Monilia*
- *Mucor:*
  - *M. javanicus*
  - *M. mucedo*
  - *M. ramannianus*
- *Mycobacterium:*
  - *M. carotenum*
  - *M. phli*
- *Nannochloropsis*
- *Neiseria:*
  - *N. gonoehoeae*
- *Neochloris:*
  - *N. oleoabundans*
- *Neurospora*
- *Nitrobacter*
- *Nitrosomonas*
- *Nitzschia:*
  - *N. closterium*
  - *N. frustulum*
- *Nocardia*
- *Nostoc:*
  - *N. commune*
  - *N. muscorum*
- *Ochromonas:*
  - *O. danica*
- *Oscillatoria:*
  - *O. brevis*
  - *O. limosa*
- *Pachysolen:*
  - *P. tannophilus*
- *Pediococcus*
- *Penicillium:*
  - *P. chrysogenum*
  - *P. citrinum*
  - *P. decumbens*
  - *P. emersonii*
  - *P. expansum*
  - *P. notatum*
  - *P. roqueforti*
- *Phaeodactylum:*
  - *Ph. tricornutum*
- *Phaffia:*
  - *Ph. rhodozyma*
- *Phanerochaete:*
  - *Ph. chrysosporium*

- *Phycomyces:*
  - *Ph. blakesleenus*
- *Pichia:*
  - *P. fermentans*
  - *P. guilliermondii*
  - *P. pastoris*
  - *P. stipites*
- *Propionibacterium:*
  - *P. acidipropionici*
  - *P. freudenreichii*
  - *P. shermanii M-82*
- *Proteus*
- *Pseudomonas:*
  - *P. aeruginosa*
  - *P. amyloderamosa*
  - *P. denitrificans*
  - *P. fluorescens*
  - *P. phaseolicola*
  - *P. putida*
  - *P. saccharophila*
  - *P. solanacearum*
- *Pullularia:*
  - *P. pullulans*
- *Pythium*
- *Rhizobium:*
  - *Rh. japonicum*
  - *Rh. leguminosarum*
- *Rhizopus:*
  - *Rh. arrbizus*
  - *Rh. delemar*
  - *Rh. formosaensis*
  - *Rh. javanicus*
  - *Rh. niveus*
  - *Rh. nodosus*
  - *Rh. oryzae*
  - *Rh. sinesis*
- *Rhodobacter:*
  - *Rh. capsulatus*
  - *Rh. sphaeroides*
  - *Rh. rhodochrous*
- *Rhodoferax:*
  - *Rh. ferrireducens*
- *Rhodomicrobium:*
  - *Rh. vannielii*
- *Rhodomicrobium*
- *Rhodopseudomonas:*

Rh. palustris
Rh. diaboratum

- *Rhodotorula:*
  - *Rh. minuta var.texensis*
  - *Rh. gracillis*
  - *Rh. rubra*
- *Saccharomyces:*
  - *S. cerevisiae*
  - *S. cerevisiae var. distaticus*
  - *S. diastaticus*
  - *S. uvarum*
- *Sarcina:*
  - *S. lutea*
- *Sargassum:*
  - *S. muticum*
- *Scenedesmus:*
  - *S. acuminatus*
  - *S. dimorphus*
  - *S. obliquus*
  - *S. quadricauda*
- *Schwanniomyces:*
  - *S. alluvius*
- *Sclerotium:*
  - *S. delphinii*
  - *S. glucanicum*
  - *S. rolfsii*
- *Scopulariopsis:*
  - *S. brevicaulis*
- *Selenastrum*
- *Serpula:*
  - *S. lacrymans*
- *Serratia*
- *Skeletonema:*
  - *S. costatum*
- *Spirulina:*
  - *S. maxima*
  - *S. plantensis*
- *Spongiococcus:*
  - *S. excentricum*
- *Sporocytophaga*
- *Sporotrichium:*
  - *S. pulverulevtum*
- *Staphylococcus*
- *Stichococcus*
- *Streptococcus:*
  - *S. cremoris*

S. lactis
S. thermophilus

- *Streptomyces:*
  - *S. fradiae*
  - *S. griseus*
  - *S. hemolyticus*
  - *S. olivaceus*
  - *S. rectus*
  - *S. venezuelae*
- *Synechococcus*
- *Tetraselmis:*
  - *T. maculata*
  - *T. suecia*
- *Thermoanaerobacter:*
  - *Th. ethanolicus*
- *Thermomonospora*
- *Thiobacillus:*
  - *Th. ferooxidans*
- *Torulopsis:*
  - *T. utilis*
- *Trichoderma:*
  - *T. harzianum*
  - *T. koningi*
  - *T. polysporum*
  - *T. roseum*
  - *T. viride*
- *Ulva:*
  - *U. reticulate*
- *Volvox*

Damascus University

Plants النباتات

Brassica napus	الخردل
Helianthus annuus	دوار الشمس
Jatropha curcas	الجاتروفا
Juncus	السُعُد
Manihot esculenta	المانيهوت
Peanut meal	الفول السوداني
Pistacia atlantica	البطم
Ricinus communis	الخروع
Saccharum officenarum	قصب السكر
Solanum tuberosum	البطاطا
Sorghum bicolor var.saccharafum	الذرة البيضاء
Soybean meal	الصويا

Damascus University

اللجنة العلميّة

الأستاذ الدكتور	الأستاذ الدكتور	الأستاذ الدكتور
عدنان شحادة	**شريف صادق**	**عبد الوهاب مرعي**

التدقيق اللغويّ

الدكتور فخري بوش

Damascus University